

Aus dem Klinischen Strahleninstitut der Universität Freiburg i. Br.

Direktor: Prof. Dr. med. E. Stutz

ERHOLUNGSVERLAUF NACH SUBLETALER

RÖNTGENGANZBESTRAHLUNG

EINE UNTERSUCHUNG AN

12, 24 UND 32 TAGE ALTEN

WISTAR-RATTEN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

einer

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Jürgen Mellmann

geboren in

HANNOVER

1966

Aus dem Klinischen Strahleninstitut der Universität Freiburg i. Br.

Direktor: Prof. Dr. med. E. Stutz

ERHOLUNGSVERLAUF NACH SUBLETALER

RÖNTGENGANZBESTRAHLUNG

EINE UNTERSUCHUNG AN

12, 24 UND 32 TAGE ALTEN

WISTAR – RATTEN

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

einer

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von

Jürgen Mellmann

geboren in

HANNOVER

1966



Dekan: Prof. Dr. med. H. U. Zollinger

Referent: Prof. Dr. med. E. Stutz

DEM ANDENKEN MEINES
AM 1. MÄRZ 1961
VERSTORBENEN VATERS
GEWIDMET

ERHOLUNGSVERLAUF NACH SUBLETALER
RÖNTGENGANZBESTRAHLUNG

EINE UNTERSUCHUNG AN
12, 24 UND 32 TAGE ALTEN
WISTAR-RATTEN

INHALTSÜBERSICHT

1.0	E i n l e i t u n g	S.	1 - 2
2.0	M e t h o d i k	S.	3 -15
2.1	Versuchsplan	S.	3
2.2	Tiermaterial	S.	5
2.3	Bestrahlung der Ratten	S.	6
2.4	Bestrahlungstechnik	S.	8
2.5	Dosimetrie am Tier	S.	9
2.6	Statistische Auswertung	S.	12
3.0	E r g e b n i s s e	S.	16 - 32
3.1	Tag 12	S.	16
3.2	Tag 24	S.	20
3.3	Tag 32	S.	23
3.4	Restschaden und Erholung	S.	25
3.5	Multiple Regressionsanalyse	S.	27
4.0	D i s k u s s i o n	S.	33 - 56
4.1	Versuchstiere	S.	33
4.2	Probitanalyse	S.	35
4.3	Einfluß von Geschlecht, Tageszeit oder Gewicht auf die Strahlenmor- talität	S.	37
4.4	Erholung nach Bedingungs-dosis: Be- sprechung des "Restschadens"	S.	40
4.5	Erholung nach Bedingungs-dosis: Be- sprechung der multiplen Regression	S.	43
4.6	Erholung nach Bedingungs-dosis: Ver- gleich mit anderen Untersuchungen	S.	45
4.7	Zelluläre Vorgänge - Ursache der Erholung nach Bedingungs-dosis	S.	50
5.0	Z u s a m m e n f a s s u n g	S.	57 -58
6.0	S c h r i f t t u m	S.	59 - 63
7.0	L e b e n s l a u f	S.	64

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN

Abbildung	1	nach S.	6
Abbildung	2	nach S.	7
Abbildung	3	nach S.	10
Abbildung	4	nach S.	11
Abbildung	5	nach S.	17
Abbildung	6	nach S.	18
Abbildung	7	nach S.	20
Abbildung	8	nach S.	21
Abbildung	9	nach S.	22
Abbildung	10	nach S.	23
Abbildung	11	nach S.	24
Abbildung	12	nach S.	26
Abbildung	13	nach S.	31
Abbildung	14	nach S.	32

Tabelle	1	nach S.	5
Tabelle	2	nach S.	12
Tabelle	3	nach S.	15
Tabelle	4	nach S.	16
Tabelle	5	nach S.	19
Tabelle	6	nach S.	25
Tabelle	7	nach S.	28
Tabelle	8	nach S.	29
Tabelle	9	nach S.	49

1.0 Einleitung

Lange Zeit vermutete man, daß sich Erholungsprozesse nach einer subletalen Dosis Röntgenstrahlen wie viele andere biologische, chemische oder physikalische Vorgänge mit einer einfachen exponentiellen Zeitabhängigkeit beschreiben ließen. Für diese Annahme sprachen auch erste Untersuchungen an ganzbestrahlten Versuchstieren (HAGEN und SIMMONS 1943; PATERSON u. a. 1952). Umso mehr überraschten Befunde, die zuerst von MOLE (1956) erhoben wurden und etwas völlig Neues brachten. MOLE beobachtete innerhalb der ersten 24 Stunden nach Ganzbestrahlung von Mäusen einen fluktuierenden Erholungsverlauf, der sich damals nicht erklären ließ. Einige Jahre später fand ELKIND (1960) nach in vitro-Bestrahlung von Einzelzellkulturen des chinesischen Hamsters ganz ähnliche wellenförmige Erholungsabläufe. Diese Fluktuationen konnte ELKIND mit Hilfe seines "repair and progression"-Modells (1961) erklären, dessen Hypothesen er inzwischen durch überzeugende Experimente bewies.

In den folgenden Jahren wurden Erholungsvorgänge vom sogenannten ELKIND-Typ mehrfach an verschiedenen biologischen Testsystemen beschrieben. In vitro-Versuche mit HeLa-Zellen (TERASIMA u. a. 1963), Mäuse-Leukämiezellen (CALDWELL u. a. 1965) oder EHRLICH-Asziteszellen (HORNSEY und SILINI 1962) bestätigten das. Sogar an Stammzellen aus dem Knochenmark der Maus ließ sich in vivo die typische Fluktuation nachweisen (TILL und McCULLOCH 1964).

Auch an der Mäusehaut wurde die Fluktuation beobachtet (FOWLER 1965), nicht aber am Thymom

der Maus (HANKS und KAPLAN 1965).

STORER (1964) sowie KALLMAN und SILINI (1963, 1964) beschrieben an verschiedenen Mäusestämmen den sogenannten ELKIND-Typ der Erholung.

KALLMAN und seine Mitarbeiter, die die weitaus umfangreichsten Tierversuche durchführten, fanden innerhalb 48 Stunden nach Exposition sogar mehrere Fluktuationen. STEARNER u. a. (1966) beobachteten die typische Erholungswelle an Küken, die zwischen 2 und 24 Stunden nach Bestrahlung untersucht wurden.

Uns interessierte nun, ob sich Ratten ebenso verhalten wie die schon mehrfach untersuchten Mäuse. Im Rahmen einer größeren Versuchsreihe über die Strahlenempfindlichkeit junger Ratten wurde deshalb ein split-Dosis-Experiment geplant, das Aufschluß über die Frühstadien der Erholung nach einer subletalen Strahlendosis geben sollte.

2.0 Methodik

2.1 Versuchsplan

An Versuchstieren kann mit der sogenannten split-Dosis-Technik der Erholungsverlauf nach einer Röntgenganzbestrahlung untersucht werden. Wenn man die Tiere beispielsweise mit 200 R bestrahlt, so wird die sofort danach ermittelte LD 50(30) um 200 R niedriger liegen als der "Normwert" der LD 50 für Tiere des gleichen Kollektivs und Alters. Die LD 50(30) ist die Dosis, welche die Hälfte eines Kollektivs innerhalb von 30 Tagen nach Exposition tötet. Läßt man nun aber zwischen Vorbestrahlung und LD 50-Bestimmung einige Zeit vergehen, so werden die LD 50-Werte um weniger als 200 R vom Normwert abweichen. Schließlich wird nach längerer Zeit die LD 50 auch bei den vorbestrahlten Tieren auf den Normwert zurückkehren. Das wäre der Augenblick, in dem sich die Tiere von der Vorbestrahlung mit 200 R, der sogenannten Bedingungs-dosis, vollständig erholt haben. Die Erholung beträgt also 0 %, wenn - unmittelbar nach Applikation der Bedingungs-dosis - die LD 50 gerade um den Betrag dieser Dosis vom Normwert abweicht. Die Erholung beträgt 100 %, wenn die LD 50 den Normwert wieder erreicht hat. Dazwischen kann der Erholungsablauf untersucht werden, indem man die LD 50 zu verschiedenen Zeiten nach der Bedingungs-dosis testet.

Als erster untersuchte KINGERY (1920) Erholungsabläufe mit fraktionierter Röntgenbestrahlung der Haut. Nach einer Dosis, die ein Hauterythem verursachte (Erythemaosis), bestimmte er die Zeit, nach der zur Erzeugung des gleichen Effekts eine zweite Dosis mit dem halben Wert der Initialdosis gegeben werden konnte. Später modifizierten HAGEN

und SIMMONS (1943) die Methode. Sie gaben einer Gruppe erwachsener Sprague-Dawley-Ratten eine erste Dosis Röntgenstrahlen und ermittelten zu verschiedenen Zeiten danach mit einer zweiten Dosis die LD 50. Diese nahm mit wachsendem Abstand von der ersten zu. Das Experiment gilt heute als klassisch, die Methode wird seitdem als sogenannte split-Dosis-Technik häufig benutzt.

Der Aufwand für ein solches Experiment nach der split-Dosis-Technik ist jedoch recht groß. Man benötigt drei Tierkollektive A, B und C. Die Tiere des Kollektivs A werden einmal mit einer subletalen Dosis vorbestrahlt. Diese Dosis heißt englisch "conditioning dose"; wir übersetzen das mit "Bedingungs-dosis", benutzen aber die englische Abkürzung D_c . An den vorbestrahlten Tieren ermittelt man in verschiedenen Zeitabständen nach Bedingungs-dosis die LD 50(30) durch Applikation von drei oder 4 abgestuften sogenannten Testdosen. Zur Kontrolle von A dient das Kollektiv B. An den Tieren wird lediglich der "Normwert" der LD 50 bestimmt. Dieser Wert ist zwar bekannt, schwankt aber in gewissen Grenzen und muß als Vergleichsgröße in jedem Versuchsabschnitt neu ermittelt werden. Schließlich braucht man noch ein Kollektiv C. Diese Tiere werden überhaupt nicht bestrahlt, aber über die gleiche Zeit beobachtet wie die exponierten. Mit dem Kollektiv C will man die "Spontanmortalität" erfassen, d. h. feststellen, wieviele Tiere während der Beobachtungszeit auch ohne Bestrahlung sterben würden. Ohne Berücksichtigung der Spontanmortalität könnte die tödliche Strahlenwirkung fälschlich zu hoch eingeschätzt werden. Eine Korrektur ist deshalb unerlässlich; die Formel dafür wird auf S. 13 angegeben.

Um den Erholungsverlauf nach einer Röntgenganzbe-

strahlung zu untersuchen, führten wir ein split-Dosis-Experiment an jungen Wistar-Ratten durch, die 12, 24 oder 32 Tage alt waren. In allen Altersstufen teilten wir die Tiere entsprechend den beschriebenen Kollektiven A, B und C ein. Als Bedingungs-dosis wählten wir 200 R für die 12 und 24 Tage und 260 R für die 32 Tage alten Ratten. Diese Dosen entsprachen der halben LD 50(30), die wir im Vorversuch ermittelten. An den vorbestrahlten Tieren bestimmten wir die LD 50(30) im Abstand von 6, 9, 12, 15, 18, 24 oder 48 Stunden nach Bedingungs-dosis. Zur Kontrolle ermittelten wir zugleich die LD 50(30) an den nicht vorbelasteten Ratten des Kollektivs B. Schließlich schätzten wir mittels der C-Kollektive die Spontanmortalität im Verlauf der Beobachtungszeit.

Die Durchführung dieses Plans erforderte mehr als 4600 Ratten. Da so viele Tiere im vorhandenen Raum nicht gleichzeitig gehalten werden konnten, wurde der Versuch in einzelne Abschnitte gegliedert. Mit jahreszeitabhängigen Schankungen der Ergebnisse war daraufhin zu rechnen. Deshalb wurden auch die Kollektive B und C über die ganze Versuchszeit verteilt. Das entsprechende Zeitprogramm ist in Tabelle 1 (nach S. 5) enthalten.

2.2 Tiermaterial

Die Versuche führten wir mit Wistar-Ratten durch, die seit 15 Jahren in eigener Zucht gehalten werden. Die Nahrung bestand aus Altromin in pellet-Form und Wasser ad libitum. Bis zum 30. Lebenstag bekamen die Tiere zusätzlich rohes Fleisch und gelegentlich Salat und Möhren.

Die Ratten saßen auf Hobelspänen in durchsichtigen Kunststoffkäfigen (Makrolon), jeweils eine Mutter

Versuchs- monat 1965	Alter	Tier- zahl	Behandlung							
			ohne	mit Bedingungs-dosis vor Stunden						
				6	9	12	15	18	24	48
April	24	259	●			○				○
	12	364	●	○		○				
Mai	24	554	●			○				○
	12	293	●	○		○				
Juli	32	392	●	○						○
	24	342	●	○					○	
	12	353	●						○	○
August	32	469	●			○	○	○		
	24	274	●			○		○		
	12	250	●					○	○	
Oktober	32	377	●		○				○	
	24	322	●		○					

Tabelle 1. Zeitfolge der einzelnen Versuchsabschnitte.

○ Bedingungs-dosis vor LD 50-Bestimmung (Kollektiv A)

● Keine Bedingungs-dosis vor LD 50-Bestimmung (Kollektiv B)

mit ihrem wurf. Die Umgebungstemperatur betrug während der Versuchsmonate 22 bis 26 °C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 bis 65 %.

Die Jungtiere wurden von März bis Oktober 1965 von Müttern geboren, die bei Beginn der Schwangerschaft wenigstens drei und höchstens neun Monate alt waren. Die Mehrzahl der Muttertiere zog während der Versuchszeit zwei bis drei Würfe auf. Durchschnittlich wurden in jedem wurf 10 Jungtiere geboren. Da nicht alle Tiere die Jugendperiode überlebten, sank die Tierzahl in den Würfen mit zunehmendem Alter. Ein wurf mit 9 Tieren am Tag 24 hatte also bessere Lebensaussichten als ein wurf mit derselben Tierzahl am Tag 12. Es sollten aber nur Tiere mit gleicher Lebenserwartung in den Versuch kommen. wir trafen deshalb eine Auslese derart, daß jeder Wurf bestrahlt wurde, der am 12. Lebenstag aus 7 oder mehr gesunden Jungtieren bestand.

2.3 Bestrahlung der Ratten

Kurz vor der Exposition trennten wir die 12 und 24 Tage alten Ratten von der Mutter. Sie wurden gezählt, nach Geschlechtsbestimmung gewogen und anschließend in einem mit Zellstoff ausgelegten Holzkasten in den Bestrahlungsraum gebracht. Dort setzten wir die Ratten in den Bestrahlungskasten aus Plexiglas. Dieser Kasten mit den Abmessungen 8 x 20 x 26 cm ließ sich durch verstellbare Zwischenwände in sechs bis zwölf Einzelboxen unterteilen (Abb. 1, nach S. 6). Im Alter von 12, 24 oder 32 Tagen hatten 12, 8 bzw. 6 Jungtiere darin Platz. Deshalb konnten wir in den jüngeren Altersgruppen meist einen ganzen Wurf auf einmal bestrahlen. Durch wechselnde Unterpolsterung mit Zellstoff

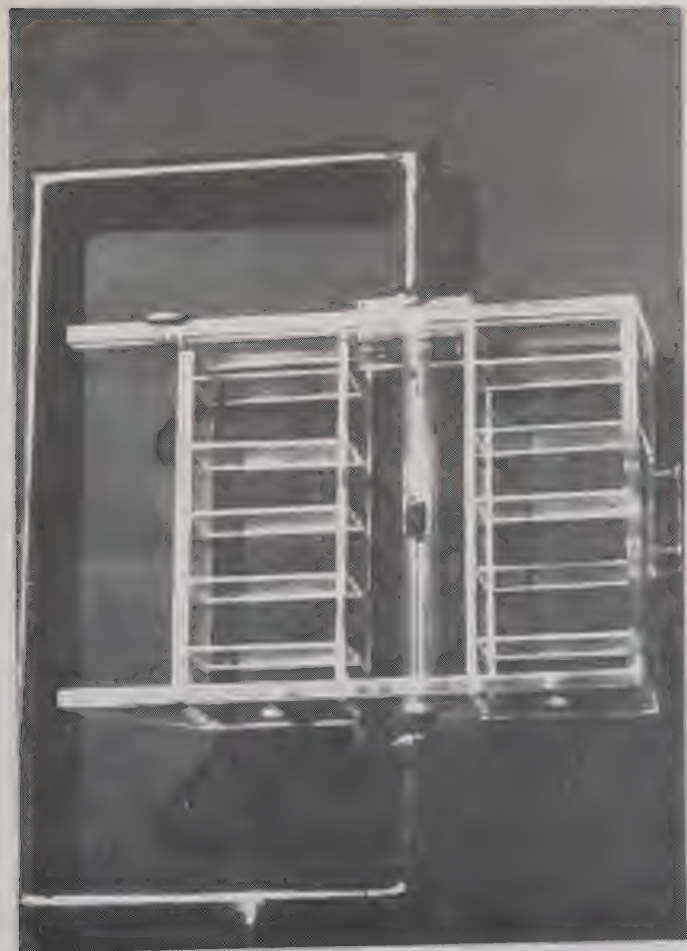


Abb. 1 Bestrahlungskasten aus Plexiglas im Halterahmen. Die Zwischenwände werden bei Bestrahlung größerer Ratten entfernt. In der Mitte des Kastens eine gefensterterte Plexiglasrohre zur Aufnahme der als Monitor dienenden Fingerhutkammer.

sorgten wir dafür, daß die Ratten mit ihrer Körpermitte immer in der Monitorebene lagen. Frei bleibende Boxen wurden mit der Tiergröße angepaßten Reisphantomen belegt.

Nach der Bestrahlung brachten wir die Jungtiere zu ihren Müttern zurück. Die Trennung dauerte bei den jüngsten Tieren etwa 15 Minuten und bei den ältesten bis zu 30 Minuten. Diese zusätzliche Belastung bedingte jedoch nicht einmal in der jüngsten Altersgruppe eine erhöhte Mortalität, wie zahlreiche Scheinbestrahlungen verschiedener Altersklassen im Rahmen anderer Experimente gezeigt hatten. Die Sterblichkeit scheinbestrahlter Jungtiere lag niemals höher als die der überhaupt nicht behandelten Kontrollkollektive. Deshalb verzichteten wir im vorliegenden Experiment auf weitere Scheinbestrahlungen.

Die im Alter von 12 und 24 Tagen exponierten Würfe blieben auch nach der Bestrahlung beim Muttertier. Die 32 Tage alten Ratten waren zwei Tage vor der Exposition von der Mutter getrennt, nach Geschlechtern gesondert und zufällig auf die Käfige verteilt (randomisiert) worden.

Alle Ratten wurden nach der Bestrahlung 30 Tage lang beobachtet und täglich kontrolliert. Die Todesfälle nach Exposition hielten wir in Absterbeprotokollen fest.

2.4 Bestrahlungstechnik

Als Strahlenquelle diente ein 200 kV-Röntgengerät für Pendelkonvergenzbestrahlung, dessen Röhre auf einer senkrechten Kreisbahn von 100 cm Durchmesser bewegt werden konnte. Das ermöglichte die



Abb. 2. Ausgleichsfilter aus acht Schichten Aluminium von je 0,2 mm Stärke.

zweiseitige Exposition der Tiere. Die eine Hälfte der Dosis applizierten wir dorsoventral, drehten die Röhre um 180° und gaben die andere Hälfte ventrodorsal. Die Schwenkung der Röhre bedingte eine Bestrahlungspause von einer halben Minute. Ein Halterahmen aus Eisenrohr trug den Bestrahlungskasten frei in der Luft, so daß für den Strahlenverlauf in beiden Richtungen gleiche Bedingungen herrschten. (Abb. 1, nach S. 6)

Zwischen dem Zentrum und der Peripherie des Strahlenfeldes bestand anfangs ein Dosisunterschied von 14 bis 17 %. Deshalb bauten wir ein Ausgleichsfilter aus acht je 0,2 mm starken Aluminiumplatten, die den gemessenen Isodosen entsprechend zugeschnitten wurden (Abb. 2, nach S. 7).

Die Filterwirkung prüften wir an 50 gleichmäßig über das Bestrahlungsfeld verteilten Meßpunkten einmal mit der Fingerhutkammer, ein zweites Mal mit Kondiometerkammern (PTW, Freiburg/Brsg.). In keinem Fall fanden wir Abweichungen, die den gleichzeitig bestimmten methodischen Meßfehler überschritten. Dieser wurde durch Wiederholungen der Meßreihe ermittelt: Die mittlere absolute Differenz zweier Meßergebnisse an demselben Meßort betrug in der Meßreihe mit einer Fingerhutkammer am Simplex-Dosimeter (PTW, Freiburg/Brsg.) $1,5 \pm 1,3 \%$ und in der Meßreihe mit Kondiometerkammern $3,0 \pm 3,6 \%$ (REINCKE, MELLMANN, ROTHER 1966).

Die physikalischen Daten der Bestrahlung waren: 200 kV, 19 bis 20 mA, Filter 0,2 mm Cu + 1,2 mm Al, HWS 0,81 Cu, Fokusabstand 50 cm.

Die Dosisleistung betrug 108 bis 116 R/min im

Zentrum des Bestrahlungskastens. Dort überprüften wir fortlaufend die Dosierung mit der Fingerhutkammer eines Simplex-Dosimeters (PTw, Freiburg/Brsg.). Das Dosimeter kontrollierten wir vor und nach jeder Bestrahlung durch Bestimmung der Radiumzeit; die Abweichungen des Instrumentes lagen während der Versuchsmonate zwischen ± 1 und $\pm 5\%$.

2.5 Dosimetrie am Tier

Da wir im vorliegenden Experiment Ratten verschiedenen Alters und damit auch verschiedenen Körpergewichts bestrahlten, bedurfte die Frage der Dosierung einer genaueren Betrachtung. Es sollen zunächst mehrere Dosisbegriffe unterschieden werden: Zur Dosierung benutzten wir die inmitten des Bestrahlungskastens gelegene Fingerhutkammer. Unter der Bezeichnung "Monitordosis" wollen wir im Folgenden den dort in R registrierten Wert verstehen. Die im Tierkörper herrschende Dosis nennen wir Gewebedosis; dabei ist wiederum zwischen der zugeführten und der absorbierten Dosis zu unterscheiden. Entsprechend den Empfehlungen der ICRU (vgl. GLOCKER und MACHERAUCH 1965, S. 230) wird die zugeführte Strahlungsenergie pro Masseneinheit in R gemessen und als Bestrahlungsdosis (exposure) angegeben, die absorbierte Strahlungsenergie in rad bestimmt und als absorbierte Dosis (absorbed dose) bezeichnet.

Zum Vergleich der altersabhängigen Strahlenemp-

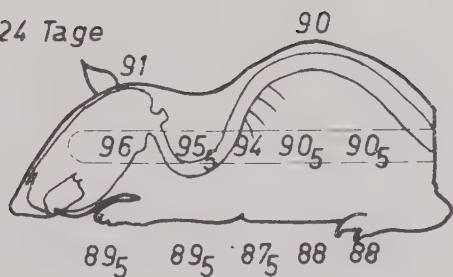
findlichkeit untersuchten wir 12, 24 und 32 Tage alte Ratten. Das Durchschnittsgewicht betrug in diesem Alter 19, 37 bzw. 55 g. Mit unterschiedlichen Streuungs- und Schwächungsverhältnissen war daher bei Bestrahlung der verschiedenen Körpervolumina zu rechnen. Bei gleichbleibenden physikalischen Bedingungen erwarteten wir die niedrigste durchschnittliche Gewebedosis für die ältesten Ratten. Das Verhältnis Monitor- zu Bestrahlungsdosis mußte experimentell bestimmt werden, aus der in R gemessenen Gewebedosis war danach die absorbierte Dosis in rad zu berechnen.

Zur Ermittlung der Gewebedosis machten wir folgendes Experiment, das bereits publiziert wurde (REINCKE, MELLMANN, ROTHER 1966).

Zwei Ratten im Alter von 24 und 32 Tagen wurden getötet und in natürlicher Haltung eingefroren. Durch eine zweckmäßige Aufhängung der Wirbelsäule beseitigten wir die sonst unvermeidliche Skoliose. In dem hartgefrorenen Tier wurde ein Bohrkanal genau median und horizontal angelegt und durch Röntgenaufnahmen in zwei Ebenen geprüft. Unter den angegebenen Bestrahlungsbedingungen führten wir nun Dosismessungen mit einer Fingerhutkammer (Meßvolumen etwa 0,4 ccm, äußeres Volumen etwa 0,6 ccm) im Bohrkanal sowie an der Oberfläche von Bauch und Rücken durch. Als Vergleichsgröße diente die mit einer zweiten Fingerhutkammer (an einem Duplex-Dosimeter der PTW, Freiburg/Brsg.) registrierte Monitor-dosis. Da die Kammern luftdicht waren, konnte eine Temperatur- und Luftdruckkorrektur der im tiefgeköhlten Tier gemessenen Dosis entfallen. Bei einem weiteren Tier von 12 Tagen Alter machten wir entsprechende Messungen an der frischen Leiche; das Anlegen eines Bohrkanals hätte hier einen unverhältnismäßig großen Substanzverlust bedeutet. Der auf Grund mehrfacher Bestimmungen errechnete Meßfehler für diesen Versuch betrug $\pm 0,75\%$ Standardabweichung der mittleren Differenz.

Über die Meßergebnisse unterrichtet Abb. 3 (nach

Alter 24 Tage



Alter 32 Tage

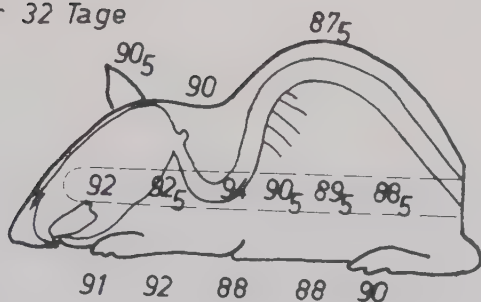


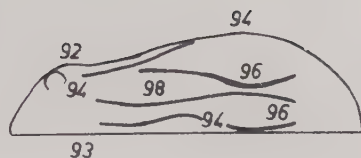
Abb. 3. Umzeichnung der Röntgenbilder tiefgefrorener Ratten. Bohrkanal und Skelett sind angedeutet. Die pro 100 R Monitor-dosis in R gemessenen Bestrahlungsdosen wurden am Meßort eingetragen.

S. 10). In der Umzeichnung des Röntgenbildes wurde der Bohrkana! dargestellt und der Verlauf der Wirbelsäule angedeutet. An den Meßorten sind die dort ermittelten Bestrahlungsdosen in Prozent der Monitor-dosis eingetragen; es handelt sich um Mittelwerte aus zwei- bis dreimal wiederholten Messungen. Die Dosen gelten für doppel-seitige Bestrahlung, wie sie bei der Exposition üblich war. Bei einseitiger Bestrahlung unter sonst gleichen Bedingungen lag die Austrittsdosis je nach Tiergröße zwischen 60 und 70 % der Eintrittsdosis. Abb. 4 (nach S. 11) zeigt die aus den Meßwerten mittels graphischer Interpolation gewonnenen Isodosen. Diese Linien gelten freilich nur annäherungsweise, erleichtern aber die räumliche Vorstellung der Dosisverteilung im Tierkörper. Aus beiden Abbildungen (3 und 4) geht hervor, daß der maximal gemessene Dosisunterschied im Rattenkörper 6 bis 8 % nicht überschreitet. Demnach kann die Dosisverteilung als hinreichend homogen betrachtet werden.

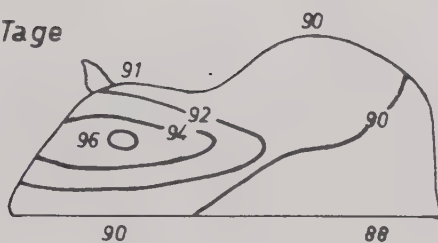
Die entsprechend den Größenunterschieden erwartete Änderung der vom Tier pro 100 R Monitor-dosis empfangenen Bestrahlungsdosis kam nur beim kleinsten Tier von 12 Tagen Alter stärker zum Ausdruck. Bei den übrigen Ratten nahmen die höheren Isodosenbereiche relativ umso mehr Raum ein, je kleiner das Tier war; dieser Umstand trägt aber zur mittleren Bestrahlungsdosis wenig bei, da die auf ein viel größeres Volumen entfallenden Mindestdosen bei den Ratten von 24 und 32 Tagen Alter mit 88 % denselben Wert aufwiesen.

Auf eine Berechnung der mittleren Bestrahlungsdosis verzichteten wir, weil die den Isodosen entsprechenden Volumina ohne einen hohen zusätzlichen Meß- und Rechenaufwand nicht geschätzt werden konnten. Die mittlere Bestrahlungsdosis liegt bei der 12 Tage alten Ratte zwischen 94 und 98 % der Monitor-dosis, bei den übrigen Tieren zwischen 88 und 94 bzw. 96 %. Die günstigsten

Alter 12 Tage



Alter 24 Tage



Alter 32 Tage

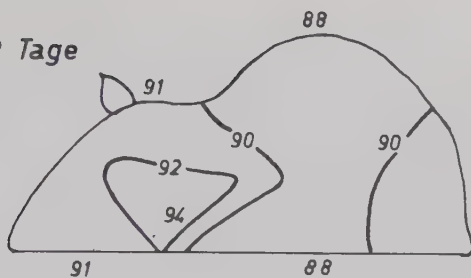


Abb. 4. Isodosen aus den in R gemessenen Bestrahlungsdosen für 12, 24 und 32 Tage alte Ratten. Angaben in Prozent der Monitordosis.

Meßbedingungen bestanden im Bohrkanal an der Stelle des größten Tierumfanges. wie aus Abb.3 (nach S. 10) hervorgeht, war die Meßkammer hier von einem etwa gleichmäßig dicken Zylinder stark wasserhaltigen Weichteilgewebes umgeben, da sie inmitten der Eingeweide lag. Der hier gemessene Wert dürfte der mittleren Bestrahlungsdosis ziemlich nahe kommen.

Die Berechnungen zur Schätzung der absorbierten Dosis sind in der oben zitierten Veröffentlichung ausführlich angegeben. Tabelle 2 (nach S. 12) faßt diese Ergebnisse zusammen: Je 100 R Montordosis fanden wir für die 12, 24, 32 oder 200 Tage alten Ratten eine Gewebedosis von 89, 84, 83 bzw. 83 rad.

2.6 Statistische Auswertung

Nach Abschluß der ganzen Versuchsserie konnten wir mit der Auswertung beginnen. Für jeden Wurf verfügten wir über folgende Daten: Alter, Gewicht und Wurfzahl der Mutter; Geburtstag des Wurfs, Zahl der lebend- und totgeborenen Jungtiere; Änderungen in der Tierzahl bis zur Bestrahlung; Alter, Anzahl, Geschlecht und Gewicht am Bestrahlungstag; Bedingungs- und Testdosis; Abnahme der Tierzahl nach Exposition bis zum letzten Beobachtungstag; Zahl und Geschlecht der Überlebenden.

Diese Daten wurden auf Hollerith-Karten übertragen. Die danach ausgedruckten Tabellen bildeten die Grundlage der Versuchsauswertung. Vor Beginn der Analyse hatten wir zu berücksichtigen, daß nicht alle Todesfälle nach Exposition auf

Alter Tage	Gewicht g	Gewebedosis je 100R Monitor dosis	
		R	rad
12	19	96	89
24	37	91	84
32	55	90	83
200	200	90	83

$$0.922 R = 1 \text{ rad}$$

Abbildung 2. Bestrahlungsdosis (R) und absorbierte Dosis (rad) in Körpermitte von Ratten verschiedenen Alters. Die Angaben gelten für je 100 R Monitor dosis bei zweiseitiger Bestrahlung.

die Strahlenwirkung zurückzuführen waren. Die ermittelte Strahlenmortalität mußte deshalb hinsichtlich der geschätzten "spontanen" Tiersterblichkeit im Beobachtungszeitraum korrigiert werden. Diese Korrektur läßt sich einfach durchführen vorausgesetzt, daß Spontan- und strahlenbedingte Mortalität voneinander unabhängig sind (FINNEY 1952).

Wenn die gesamte Mortalität nach Bestrahlung $P\%$ und die "Spontansterblichkeit" $C\%$ beträgt, so ist die korrigierte Strahlenmortalität

$$P = \frac{P' - C}{100 - P} 100 \quad (\%).$$

Aus den korrigierten Mortalitäten berechneten wir mittels Probitanalyse (FINNEY 1952) Regressionsgeraden der allgemeinen Form

$$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x});$$

der Schnittpunkt der 50 %-Linie mit der Regressionsgeraden entspricht dabei der LD 50(30).

Für die Geraden bestimmten wir die 95 %-Vertrauensgrenzen (fiducial limits) $FL = Y \pm s_{y.t.}$. Dazu wurde nach FINNEY die Normalverteilung benutzt, so daß im Probitsystem $\sigma = 1$ und $u_{\frac{\alpha}{2}} = -1,96$ und $u_{1-\frac{\alpha}{2}} = 1,96$ gilt.

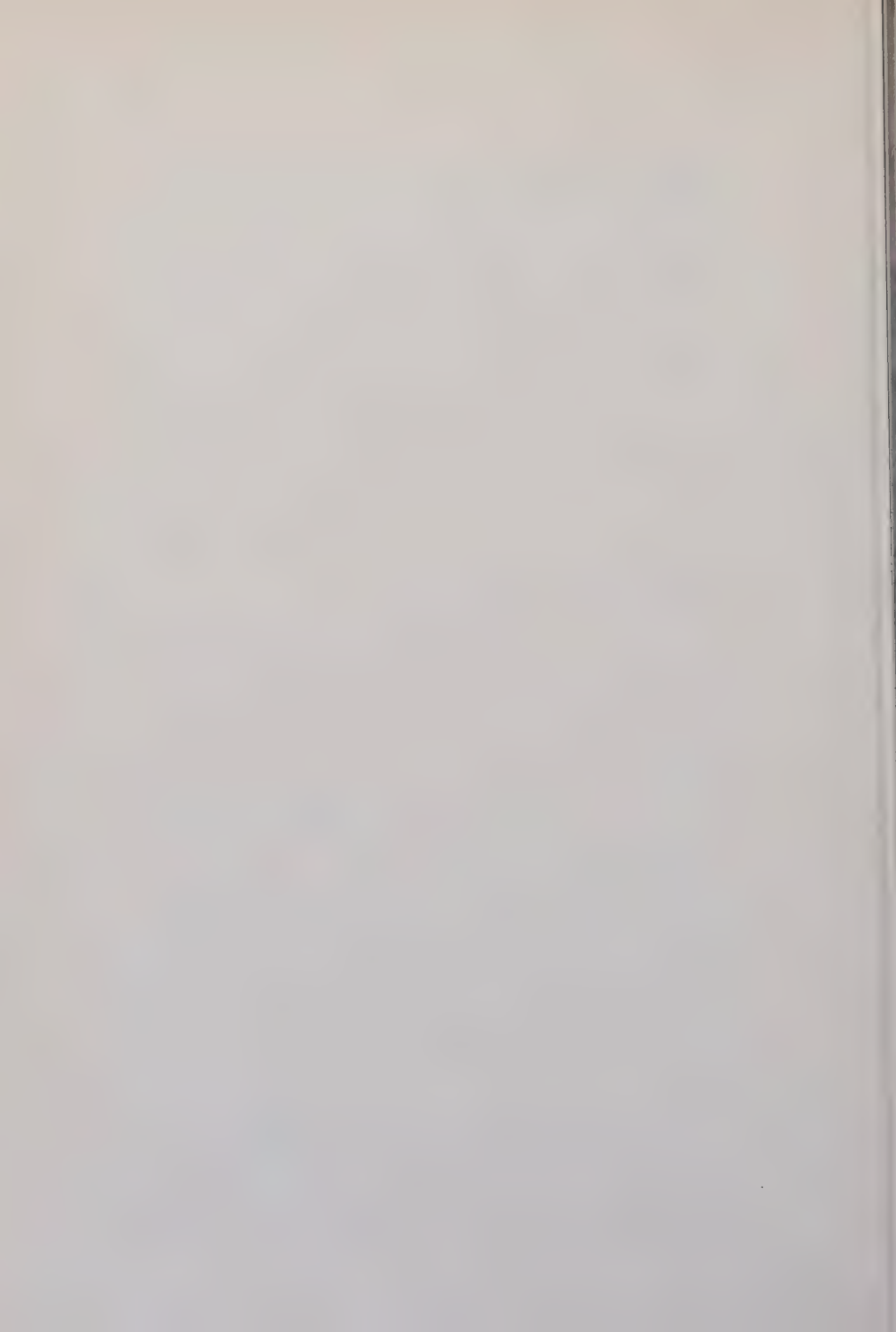
Wenn die mittels χ^2 -Test durchgeführte Prüfung auf Heterogenität signifikant ausfiel, so wurden statt der Normal- die t-Verteilung mit $k-2$ Freiheitsgraden, statt σ der Wert $s \cdot \sqrt{\chi^2/(k-2)}$ und statt $u_{\frac{\alpha}{2}}$ bzw. $u_{1-\frac{\alpha}{2}}$ die Werte $t_{\frac{\alpha}{2}, k-2}$ bzw. $t_{1-\frac{\alpha}{2}, k-2}$ verwendet. FINNEY nennt $\chi^2/k-2$ den "Heterogenitätsfaktor", mit dem man bei vorliegender Heterogenität alle Varianzen multipliziert. Sind zur Bestimmung des Heterogenitätsfaktors nur wenige

Freiheitsgrade $f = k-2$ verfügbar, so werden der zugehörige t-wert größer und infolgedessen die Vertrauensgrenzen weiter. Mit breiteren Vertrauensgrenzen infolge Heterogenität müssen wir außerdem rechnen, wenn die Tiere nicht unabhängig voneinander reagieren (FINNEY 1952, S. 24).

Nicht unabhängige Reaktionen sind für die 12 und 24 Tage alten Ratten zu erwarten, weil sie als Wurf bestrahlt wurden: Wurfgeschwister sind sowohl genetisch als auch hinsichtlich der Aufzuchtbedingungen untereinander ähnlicher als Jungtiere aus verschiedenen Würfen. Dagegen dürfen wir annehmen, daß die vor der Exposition randomisierten 32 Tage alten Jungtiere unabhängig voneinander reagieren.

Die 95 %-Vertrauensgrenzen bezeichnen den Bereich, in dem die Regressionsgeraden bei einer Wiederholung des Versuchs mit 95 % Wahrscheinlichkeit zu erwarten wären. Es läßt sich auch mit ihrer Hilfe entscheiden, ob die einzelnen LD 50-Werte signifikant voneinander abweichen. Das ist sicher dann der Fall, wenn die benachbarten Äste der Vertrauensgrenzen verschiedener Regressionsgeraden im Bereich der 50 %-Linie sich nicht überschneiden und die LD 50-Werte nicht extrapoliert werden mußten. Von einer Extrapolation der LD 50-Werte wollen wir dann sprechen, wenn nach allen für die LD 50-Schätzung herangezogenen Dosen die Anteile der Gestorbenen ausschließlich größer oder ausschließlich kleiner als 50 % waren.

In unseren Versuchen lagen erwartungsgemäß die LD 50-Werte der nur einmal bestrahlten Tiere des Kollektivs B höher als die der vorbelasteten Ratten des Kollektivs A. Bildet man die Differenz



zwischen den LD 50-Werten ein- und zweimal bestrahlter Tiere, so bestimmt man den sogenannten Restschaden in R:

$$I = LD\ 50_B - LD\ 50_A$$

Mit "Restschaden" übersetzen wir das englische "residual injury" und verwenden dafür die englische Abkürzung I.

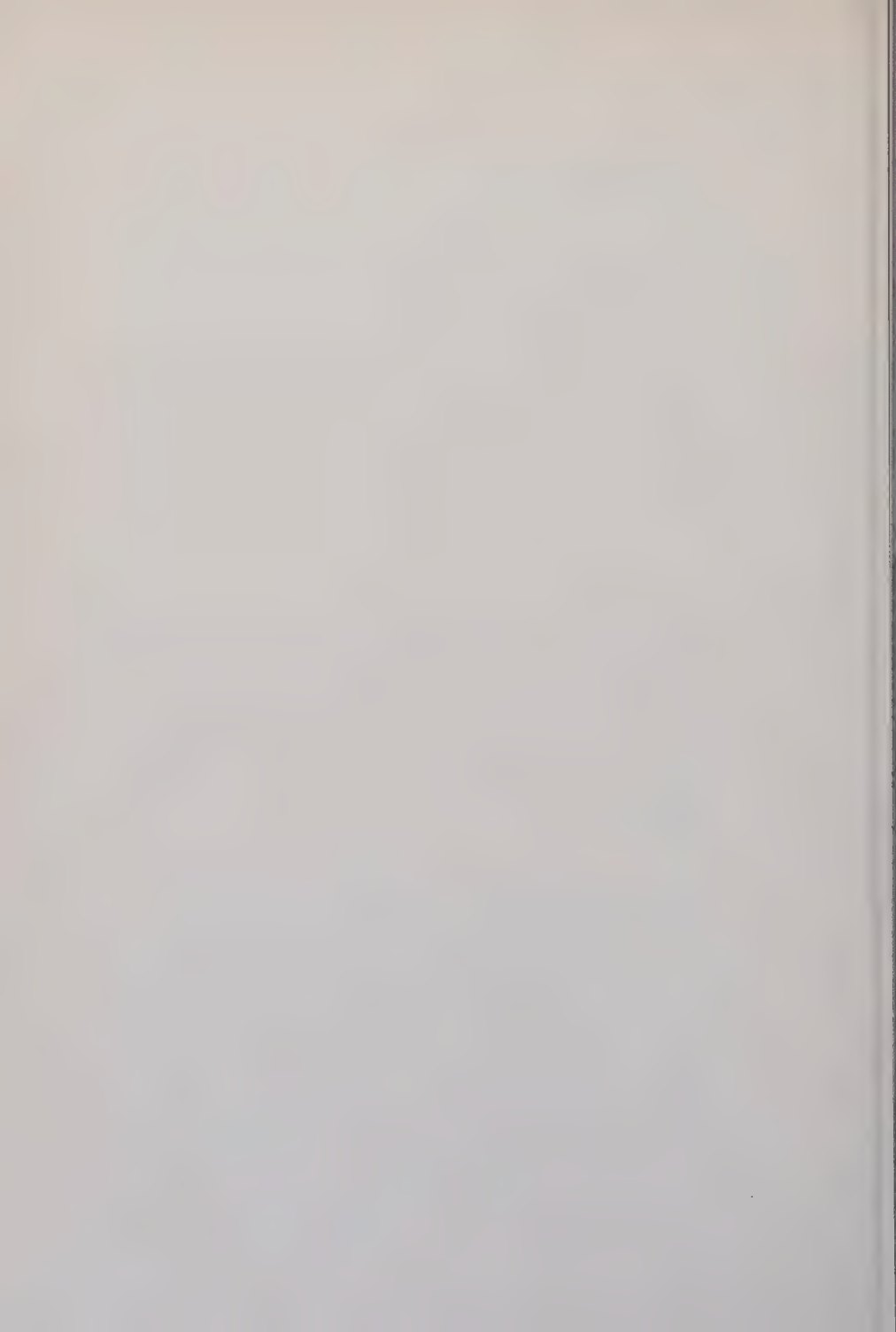
Der in R berechnete Restschaden gestattet noch keinen Vergleich mehrerer Altersgruppen mit verschiedenen Bedingungs-dosen. Ein solcher Vergleich wird erst möglich, wenn man den Restschaden in Prozent der Bedingungs-dosis berechnet:

$$\% I = \frac{I}{D_c} 100.$$

Ein Zahlenbeispiel soll das verdeutlichen: Eine LD 50_B betrage 400 R, eine LD 50_A 300 R; daraus ergibt sich ein Restschaden von 100 R. Diese 100 R bedeuten nach einer höheren Bedingungs-dosis von D_c = 260 R einen kleineren Schaden als nach einer niedrigeren von D_c = 200 R. Der Restschaden beträgt im ersten Fall 38 %, im zweiten aber 50 %.

Zur Vereinfachung der Schreibweise werden wir folgende Abkürzungen benutzen:

- D_c = Bedingungs-dosis (Vorbestrahlung),
- D_t = Testdosis, eine von drei oder vier verschiedenen Dosen zur Bestimmung der LD 50(30),
- C = Spontanmortalität in Prozent,
- LD 50_A = LD 50(30) der vorbestrahlten Ratten (Kollektiv A),
- LD 50_B = LD 50(30) der nicht vorbestrahlten Ratten (Kollektiv B),
- I = Restschaden in R,
- % I = Restschaden in Prozent der Bedingungs-dosis.



Versuchs- monat 1965	Spontanmortalität unbestrahlter Ratten					
	Alter 12 Tage		Alter 24 Tage		Alter 32 Tage	
	n	C	n	C	n	C
April	105	20	92	15	—	—
Mai	83	5	79	1	—	—
Juli	105	1	105	4	104	4
August	47	0	47	0	47	0
Oktober	—	—	46	2	46	2

Tabelle 3. Spontanmortalität unbestrahlter Ratten während der einzelnen Versuchsabschnitte. n = Tierzahl, C = Prozent Mortalität.

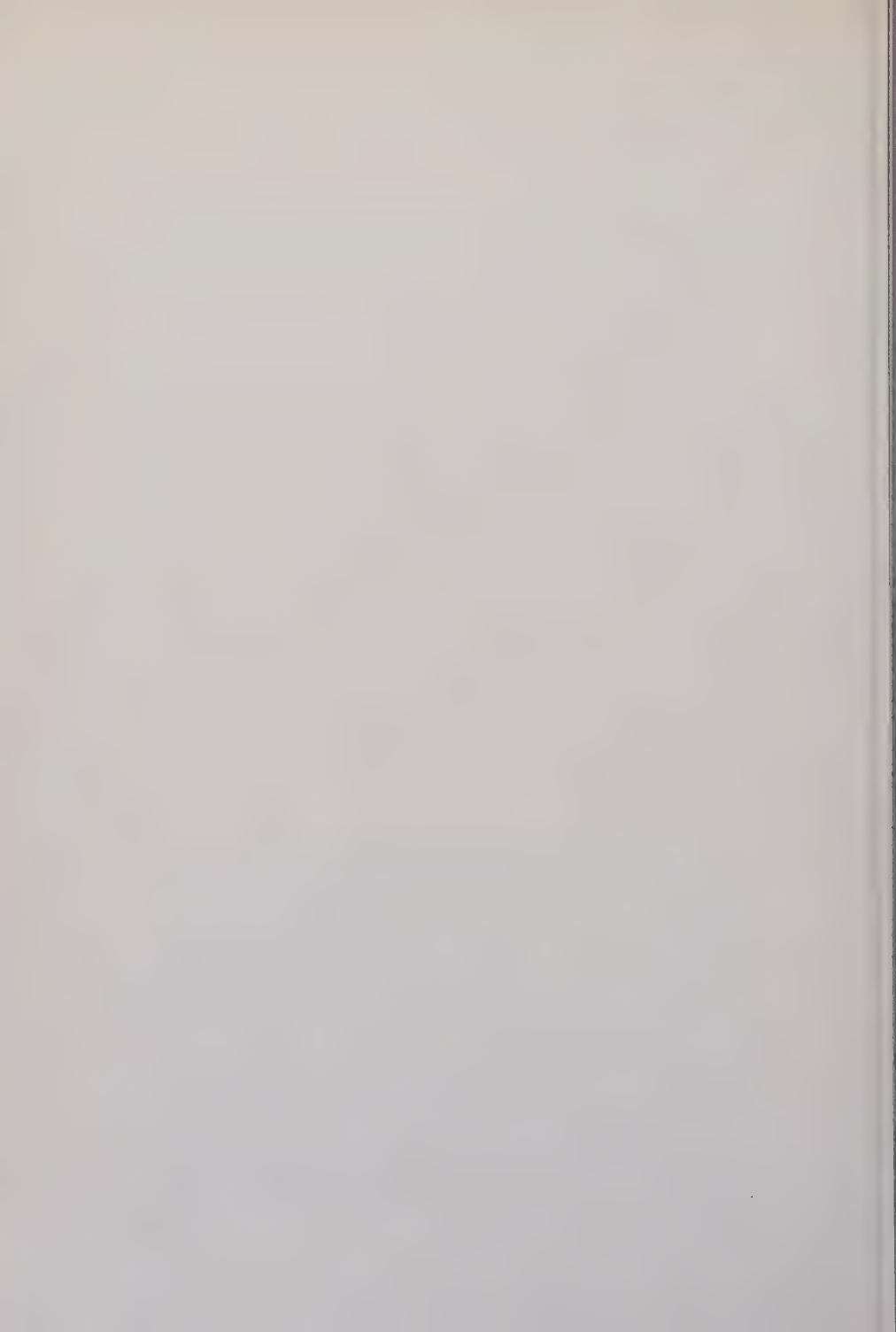


3.0 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse Tag 12

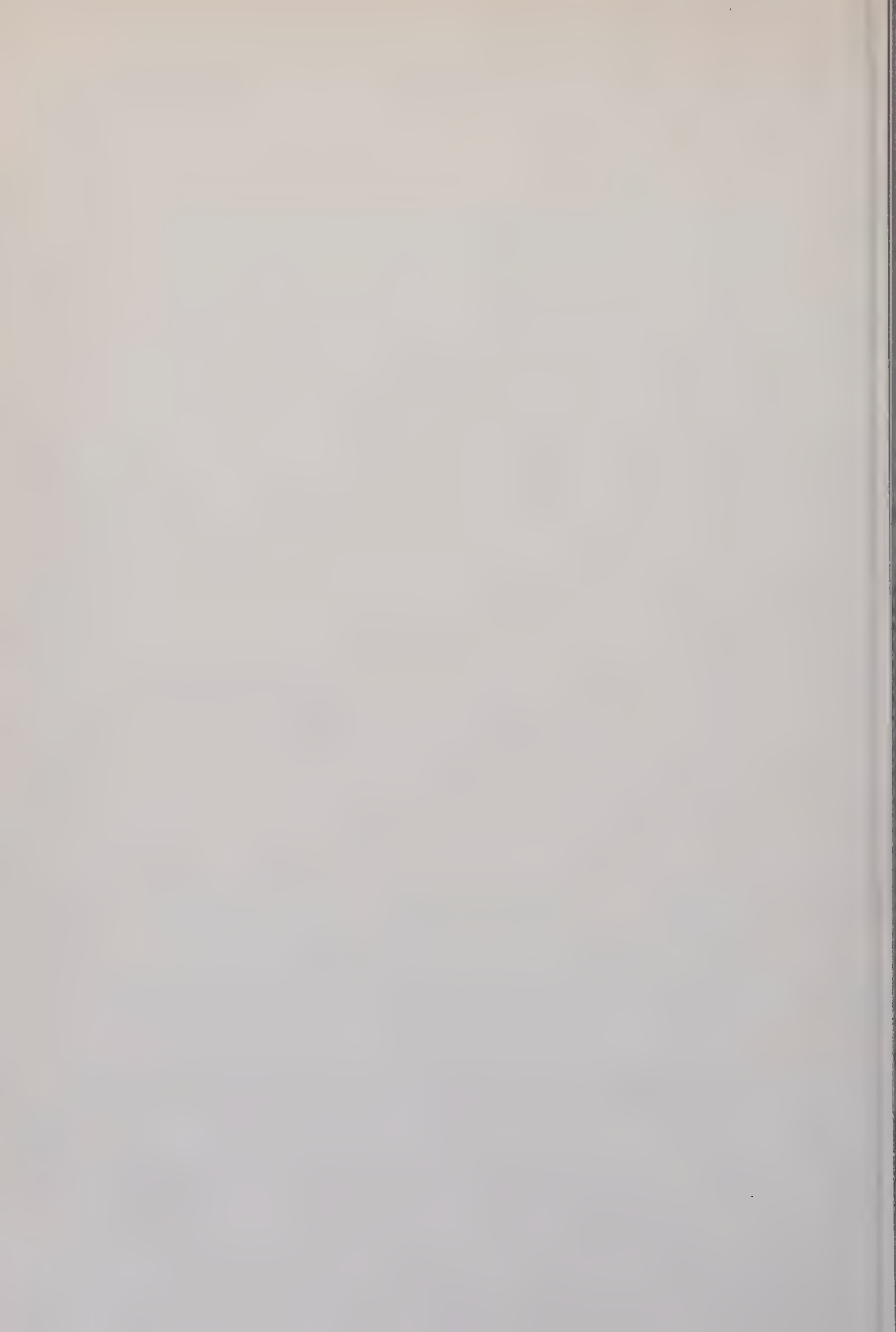
Während der Versuchszeit von März bis Oktober 1965 bestrahlten wir insgesamt 1280 männliche und weibliche Ratten im Alter von 12 Tagen. 730 Tiere erhielten die Bedingungs-dosis von 200R. Im Abstand von 6, 12, 18, 24 oder 48 Stunden nach der Bedingungs-dosis (vgl. Tabelle 1, nach S. 5) wurde an diesen Ratten mit Testdosen zwischen 220 und 470 R die LD 50(30) bestimmt. Auf die einzelnen Intervalle verteilten sich die 730 Tiere wie folgt mit 171, 184, 80, 174 und 121 Ratten. 550 Jungtiere bekamen keine Bedingungs-dosis, sondern nur Testdosen zwischen 370 und 470 R zur Ermittlung der LD 50(30). Tabelle 4a (nach S. 16) enthält eine nach Zeitintervallen aufgeschlüsselte Zusammenfassung aller bestrahlten Tiere und der jeweils applizierten Strahlungsdosen.

Aus der Menge der Absterbekurven griffen wir einige zur graphischen Darstellung heraus (Abb. 5, nach S. 17). wir benutzten dabei ein Zufallsschema, um der Versuchung zur Auswahl optimaler Ergebnisse zu entgehen. Auf der Abbildung sind jeweils übereinander die Überlebensprozentkurven der ein- und zweimal bestrahlten Gruppen angegeben. Vom Anfang der Experimente stammt die Abbildung 5a. Zwölf Stunden nach Vorbestrahlung erhielten die Ratten damals dieselben Testdosen zur LD 50-Schätzung wie die nur einmal exponierten Tiere. Das erwies sich als grobe Überdosierung, und alle Ratten gingen zugrunde. Im



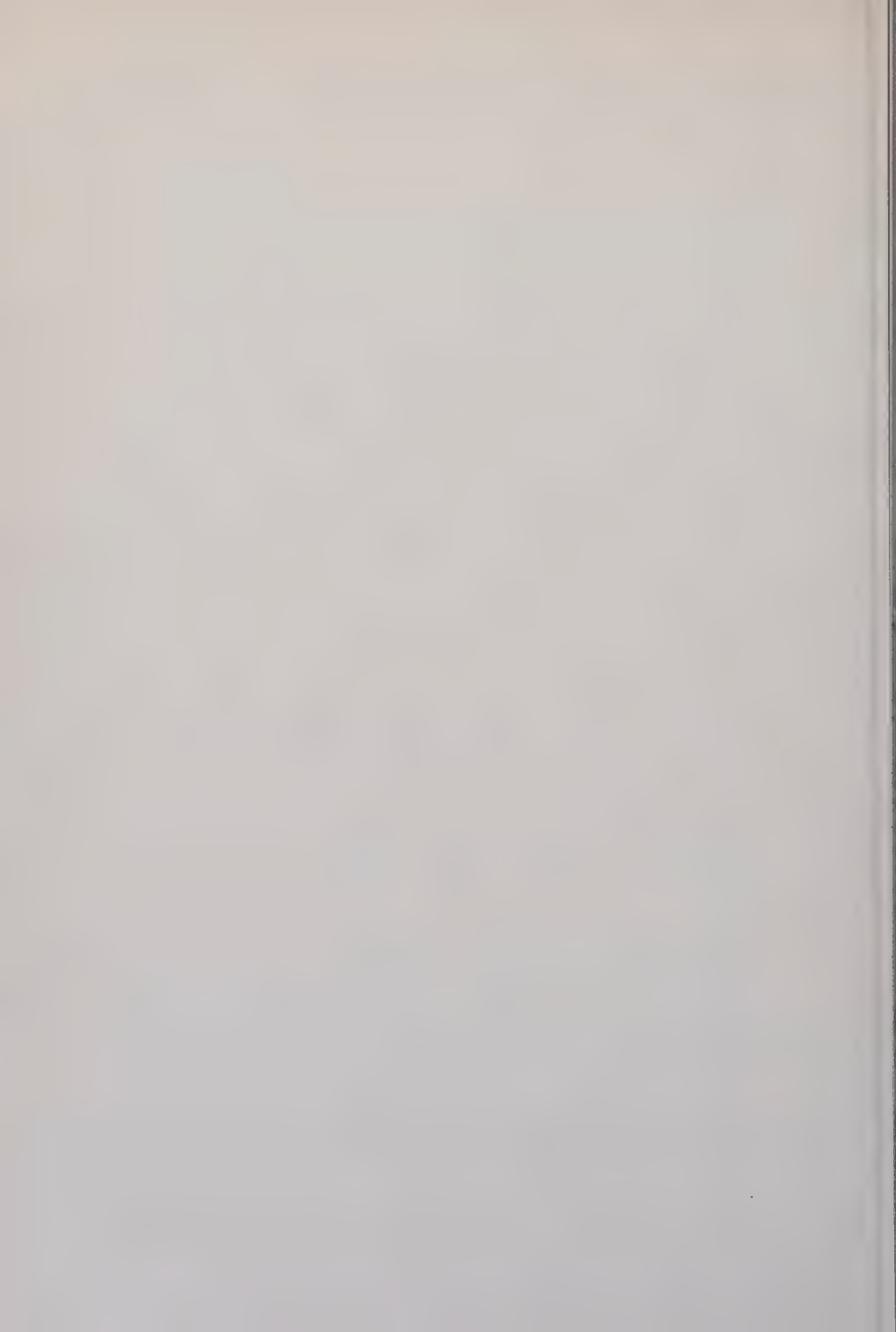
Dosis (R)	Bestrahlte Tiere / Stunden nach D _c					Gestorbene Tiere			ohne D _c
	6	9	12	15	18	24	48		
220	33/26				27/12	23/15			
250					23/15				
260			32/12			61/54			
280									
290	26/22				30/25		32/32		
300									
310			25/19						
315									
320						35/30			
330	30/30					27/25	52/39		
340						28/27			
350									
360			26/26						109/33
370	43/43		46/45						70/22
380							37/36		41/17
410									175/122
420	20/20		48/48						38/16
450									67/55
460									50/43
470	19/19		7/7						

Tabelle 4a. Übersicht aller im Alter von 12 Tagen bestrahlten und innerhalb 30 Tagen gestorbenen Ratten. Die verabreichten Dosen sind nach Zeitintervallen aufgeschlüsselt.



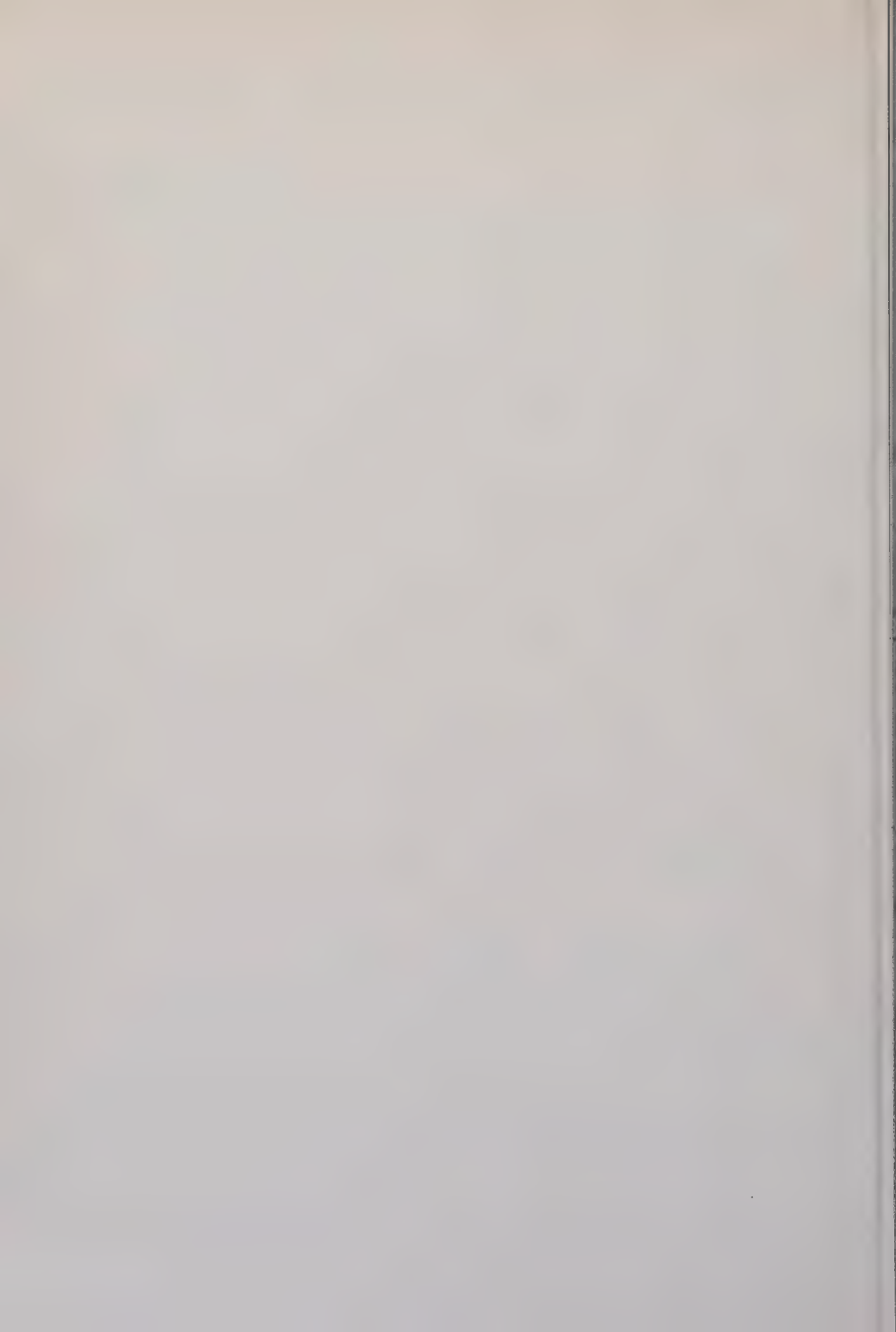
Dosis (K)	Bestrahlte Tiere / Gestorbene Tiere Stunden nach D _C						Tiere ohne D _C
	6	9	12	15	18	24	48
210	35/12				36/7		
230		48/28					
240	44/15						
250			30/12				
260					43/27		
270		45/24				35/14	
280	35/12						
290			26/19				
310		39/36					
320			50/36		37/35	33/23	
340			26/25				58/47
350		40/19					
360			49/48			34/29	
370			18/10				123/47
380							78/36
400			40/40				49/30
420							188/113
430			22/22				45/16
450							43/22
470							116/74
500			18/18				92/68
						26/26	

Tabelle 4b. Übersicht aller im Alter von 24 Tagen bestrahlten und innerhalb 30 Tagen gestorbenen Ratten. Die verabreichten Dosen sind nach Zeitintervallen aufgeschlüsselt.



Dosis (R)	Bestrahlte Tiere / Gestorbene Tiere Stunden nach D _c						Tiere ohne D _c
	6	9	12	15	18	24	48
220					39/16		
240		30/10					
250	28/18				40/14		
270			40/16	40/23		40/24	
280	30/28	40/30					
290					30/17		
310			30/22	30/19		39/28	
320	30/26	40/32			30/23		
350						40/35	20/16
360	30/28		40/30	40/36			
370		30/23					20/18 10/10
390							
400							78/25
410							
440							38/25
450							70/43
480							
490							20/19 10/9
500							47/38
550							80/66
560							40/34
570							
630							9/9 30/30

Tabelle 4c. Übersicht aller im Alter von 32 Tagen bestrahlten und innerhalb 30 Tagen gestorbenen Ratten. Die verabreichten Dosen sind nach Zeitintervallen aufgeschlüsselt.

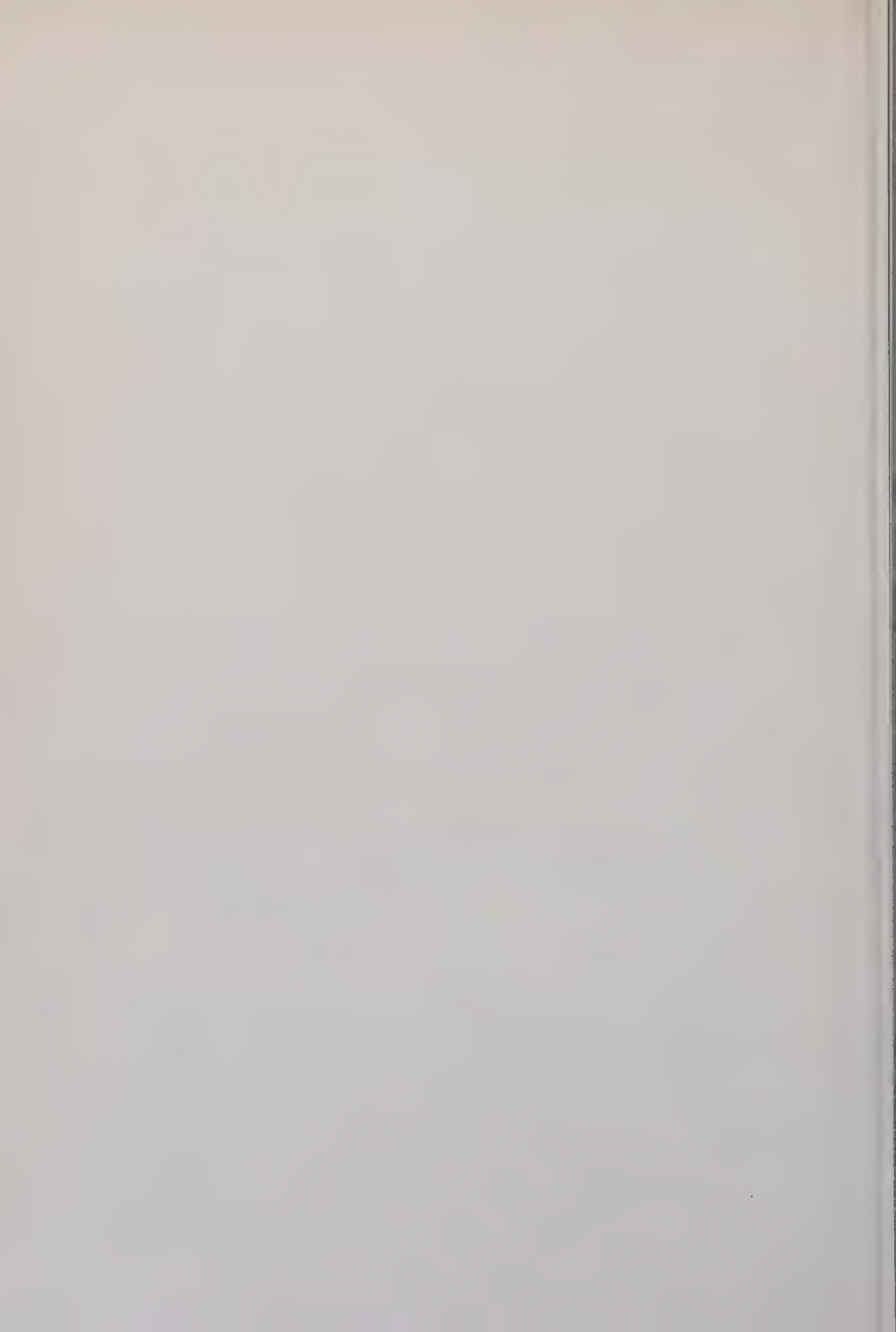


Wiederholungsversuch (Abb. 5b, nach S. 17) setzten wir daher die Testdosen für die vorbestrahlten Tiere wesentlich niedriger an.

Auch die Bestrahlungsdosen der einmal exponierten Ratten (Kollektiv B) wechselten etwas in den verschiedenen Versuchsabschnitten. Das erklärt sich dadurch, daß Zwischenauswertungen während der Versuchszeit mehrfach zu Korrekturen der geschätzten Dosis-Wirkungs-Kurven und damit zu Änderungen der Testdosen führten. Die Absterbekurven der einmal bestrahlten Tiere lassen recht deutlich auch die Reaktionsschwankungen erkennen, die im Verlauf der monatelangen Versuchsserie auftraten (Abb. 5a-d, nach S. 17).

Da erwartungsgemäß nicht alle Säuglingsratten das Erwachsenenalter erreichen, mußten wir außer den exponierten Gruppen auch unbestrahlte Kollektive zur Kontrolle der "Spontanmortalität" beobachten (Kollektiv C). Einen Überblick gibt Tabelle 3 (nach S. 15). Die Prozentzahlen bezeichnen die Sterblichkeit innerhalb von 30 Tagen bei Beobachtungsbeginn in einem Alter, das dem der bestrahlten entspricht. Die Säuglingssterblichkeit war am größten im Monat April und betrug dort 20 %, während der Sommermonate sank sie auf 0 %.

Nach Abschluß der Experimente wurden die Ergebnisse zusammengefaßt und Dosis-Wirkungs-Kurven mittels Probitanalyse (FINNEY 1952) berechnet (Abb. 6, nach S. 18). Die Ordinate gibt die Mortalität sowohl in Prozent als auch in Probiteinheiten an. Auf der Abszisse ist die Dosis logarithmisch und in $\bar{N}$ dargestellt. Die



ALTER 12 TAGE

APRIL 1965

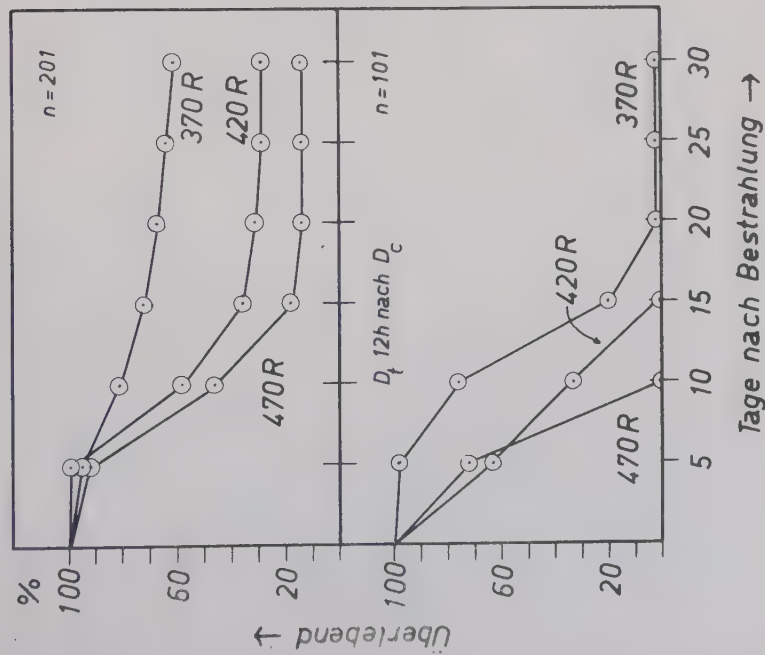


Abb. 5a.

Absterbekurven nach Testdosen zur LD 50(30)-Bestimmung an 12 Tage alten Ratten. Oben: Kontrollgruppen, nur einmal exponiert. Unten: Tiere zweimal exponiert, vor der Testdosis wurde zusätzlich die Bedingungs-dosis von 200 R appliziert. n = Tierzahl, D_c = Bedingungs-dosis, D_t = Testdosis.

ALTER 12 TAGE

MAI 1965

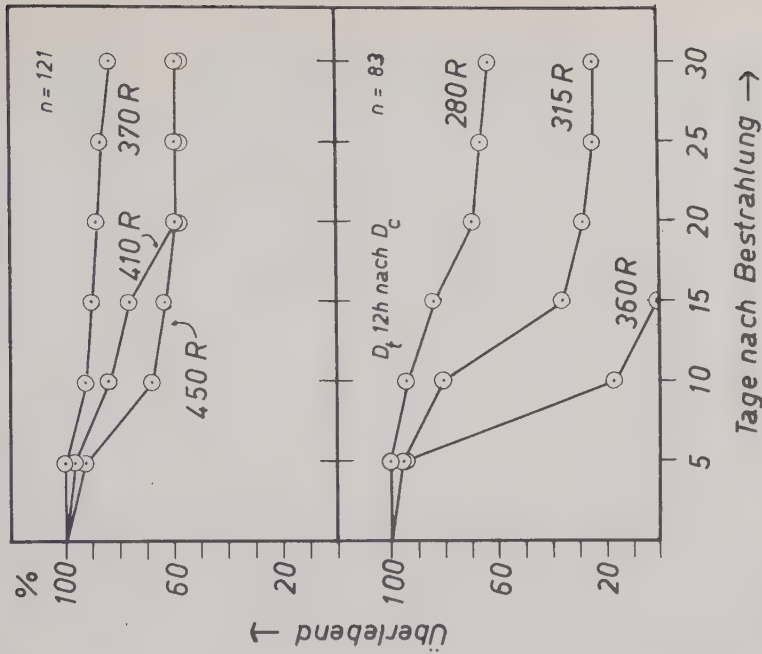
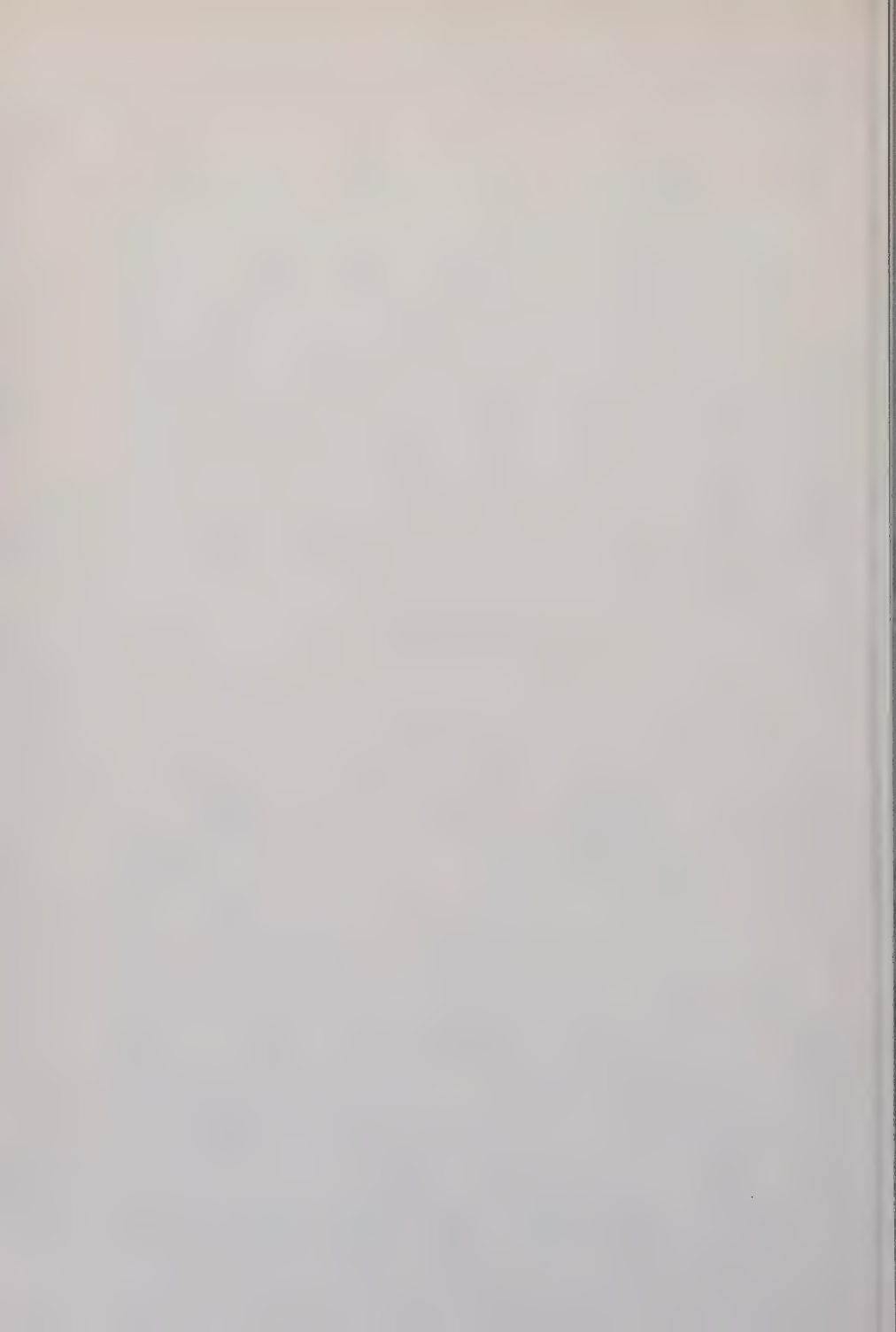


Abb. 5b.

Absterbekurven nach Testdosen zur LD 50(30)-Bestimmung an 12 Tage alten Ratten. Oben: Kontrollgruppen, nur einmal exponiert. Unten: Tiere zweimal exponiert, vor der Testdosis wurde zusätzlich die Bedingungs-dosis von 200 R appliziert. n = Tierzahl, D_c = Bedingungs-dosis, D_t = Testdosis.



ALTER 12 TAGE JULI 1965

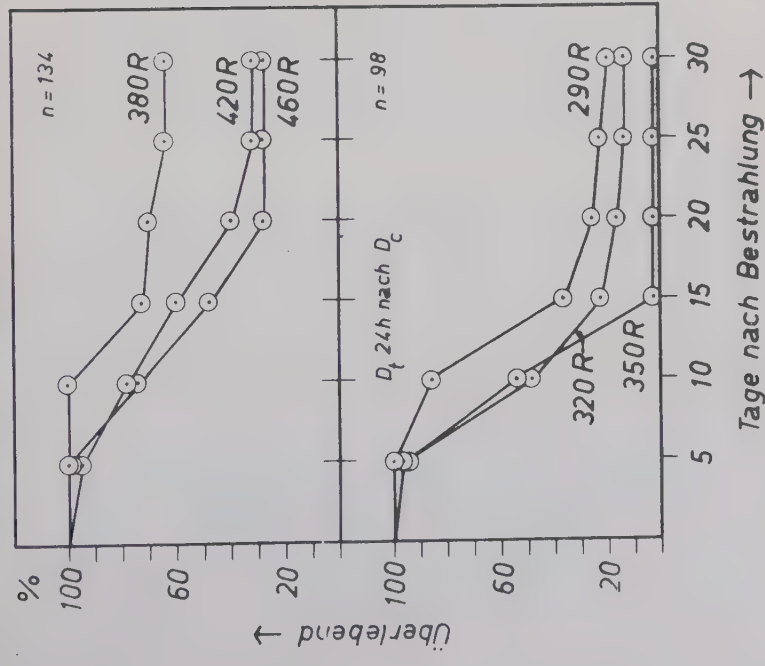


Abb. 5c.

Absterbekurven nach Testdosen zur LD 50(30)-Bestimmung an 12 Tage alten Ratten. Oben: Kontrollgruppen, nur einmal exponiert. Unten: Tiere zweimal exponiert, vor der Testdosis wurde zusätzlich die Bedingungs-dosis von 200 R appliziert. n = Tierzahl, D_c = Bedingungs-dosis, D_t = Testdosis.

ALTER 12 TAGE AUGUST 1965

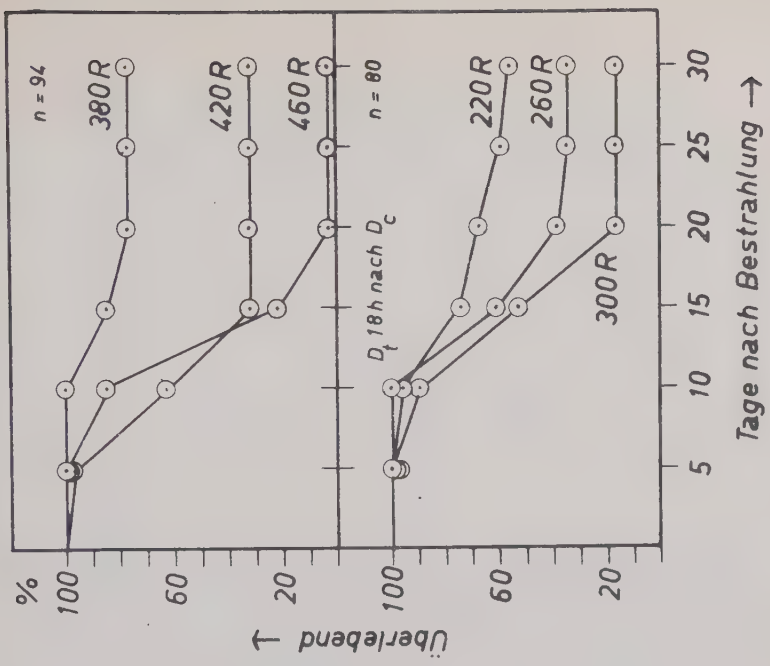
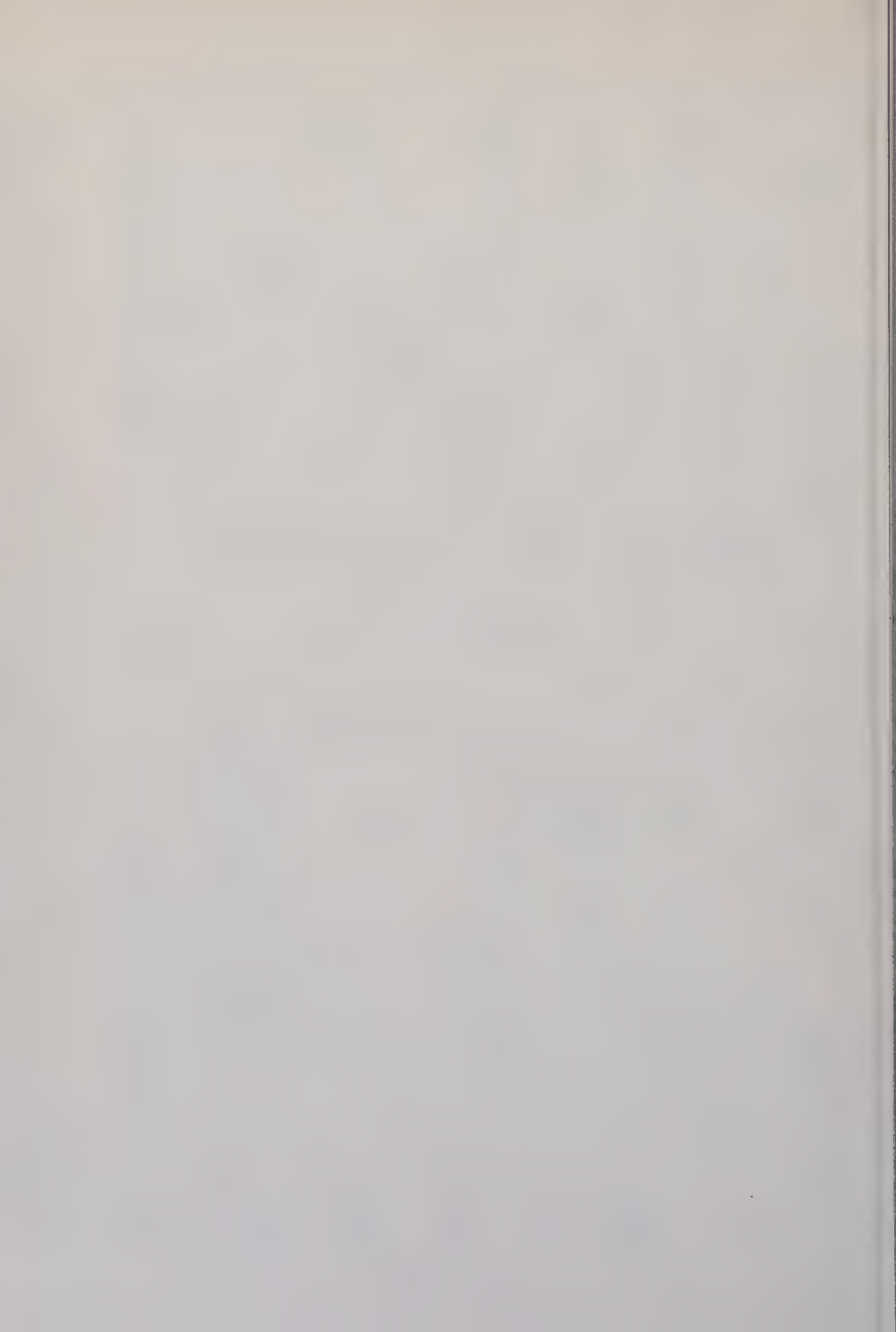


Abb. 5d.

Absterbekurven nach Testdosen zur LD 50(30)-Bestimmung an 12 Tage alten Ratten. Oben: Kontrollgruppen, nur einmal exponiert. Unten: Tiere zweimal exponiert, vor der Testdosis wurde zusätzlich die Bedingungs-dosis von 200 R appliziert. n = Tierzahl, D_c = Bedingungs-dosis, D_t = Testdosis.



Schnittpunkte der 50 %-Linie mit den Probit-Regressionsgeraden entsprechen den einzelnen LD 50(30)-Werten. Tabelle 5 (nach S.19) enthält die dazugehörigen Gleichungen, die Standardabweichung der logarithmierten individuellen Wirkdosen (s_d) und die Standardabweichung der mittleren tödlichen Dosis (s_E).

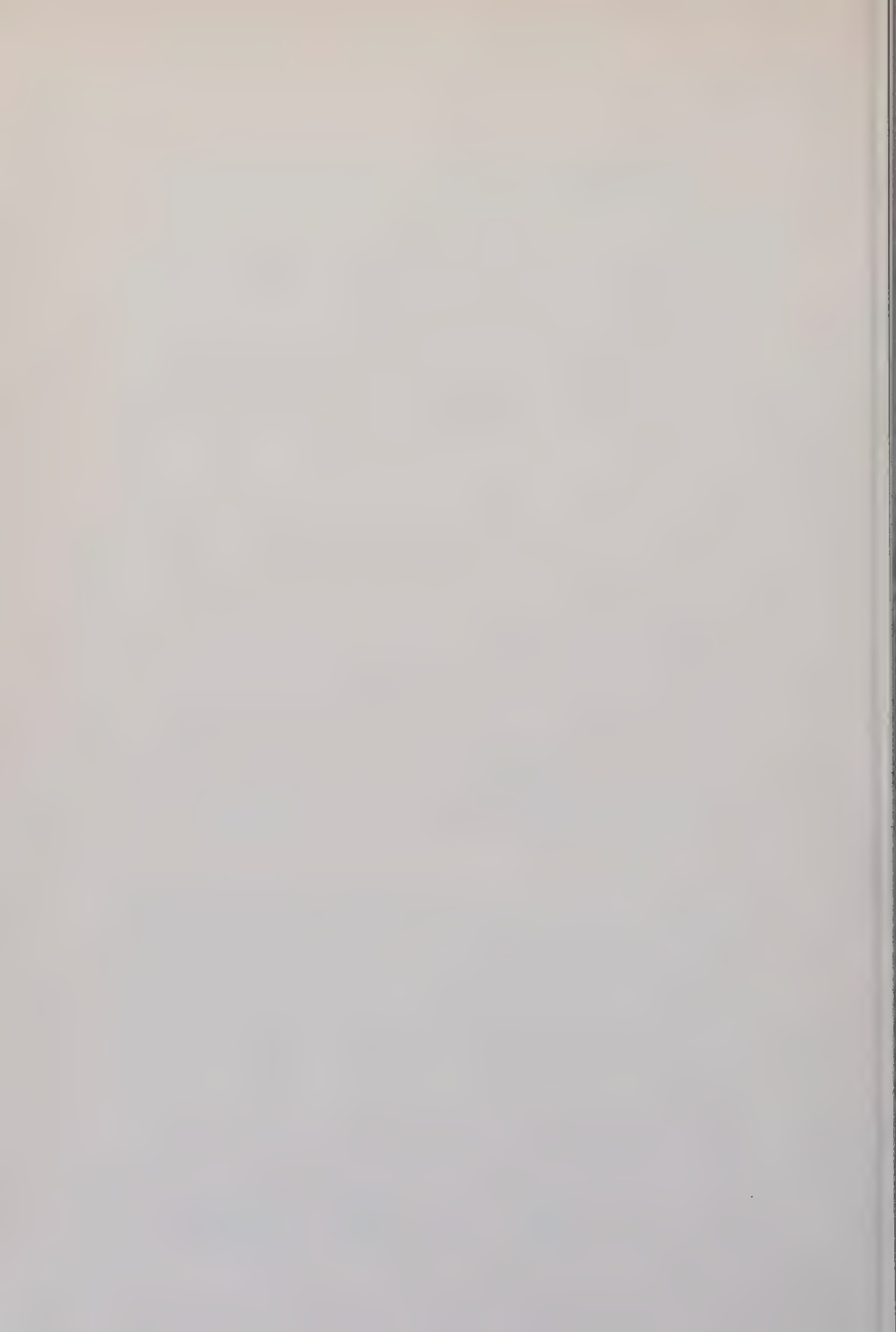
Die Steigung b der Probitgeraden ist umgekehrt proportional der Standardabweichung der zugrundeliegenden individuellen Wirkdosen

$$b = \frac{1}{s},$$

wobei s eine Schätzung von s_d darstellt (FINNEY 1952). Eine geringe Steigung (slope) entspricht also einer großen, eine starke einer kleinen Standardabweichung s_d . Da die Steigungen b der Regressionsgeraden signifikant voneinander abweichen, lassen sich die Unterschiede zwischen den einzelnen LD 50-Werten nicht durch eines der üblichen Testverfahren statistisch prüfen. Nur aus der Lage der Vertrauensgrenzen können wir auf bestehende Unterschiede schließen.

Betrachten wir nun die Abbildung 6 (nach S. 18): Die Kurve ganz rechts veranschaulicht die Dosis-Wirkungs-Beziehung, die wir für die nur einmal bestrahlten Tiere fanden. Die LD 50 dieser Ratten ist am höchsten, wie aus dem weit rechts (im Bild) liegenden Schnittpunkt hervorgeht, und beträgt $410 \pm 8 R s_E$.

Die Dosis-Wirkungs-Kurven der mit 200 R vorbe-strahlten Kollektive sind links im Bild zu sehen. Die LD 50 wurde an diesen Tieren 6, 12, 18 und 24 Stunden nach der Bedingungs-dosis ermittelt. Für das 6- und 24-Stunden-Intervall



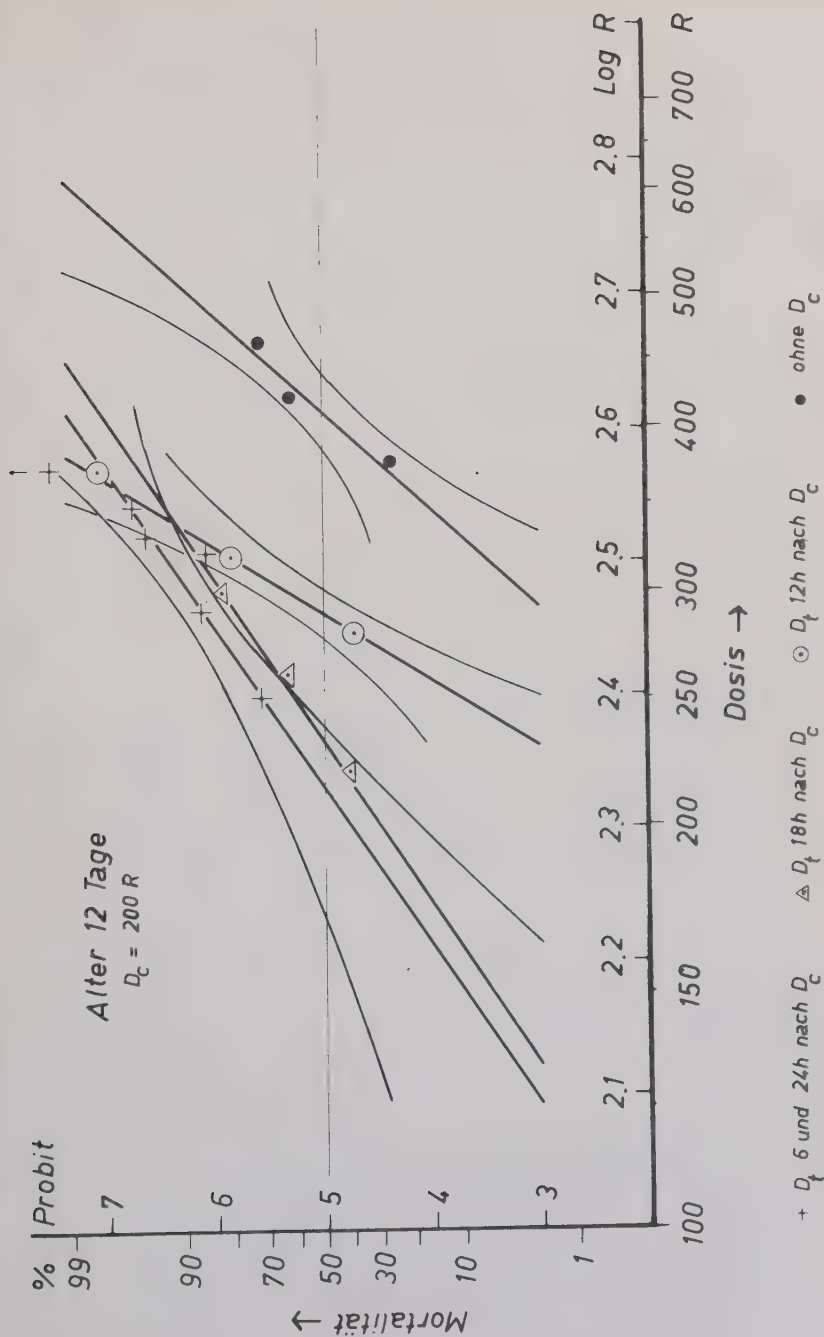
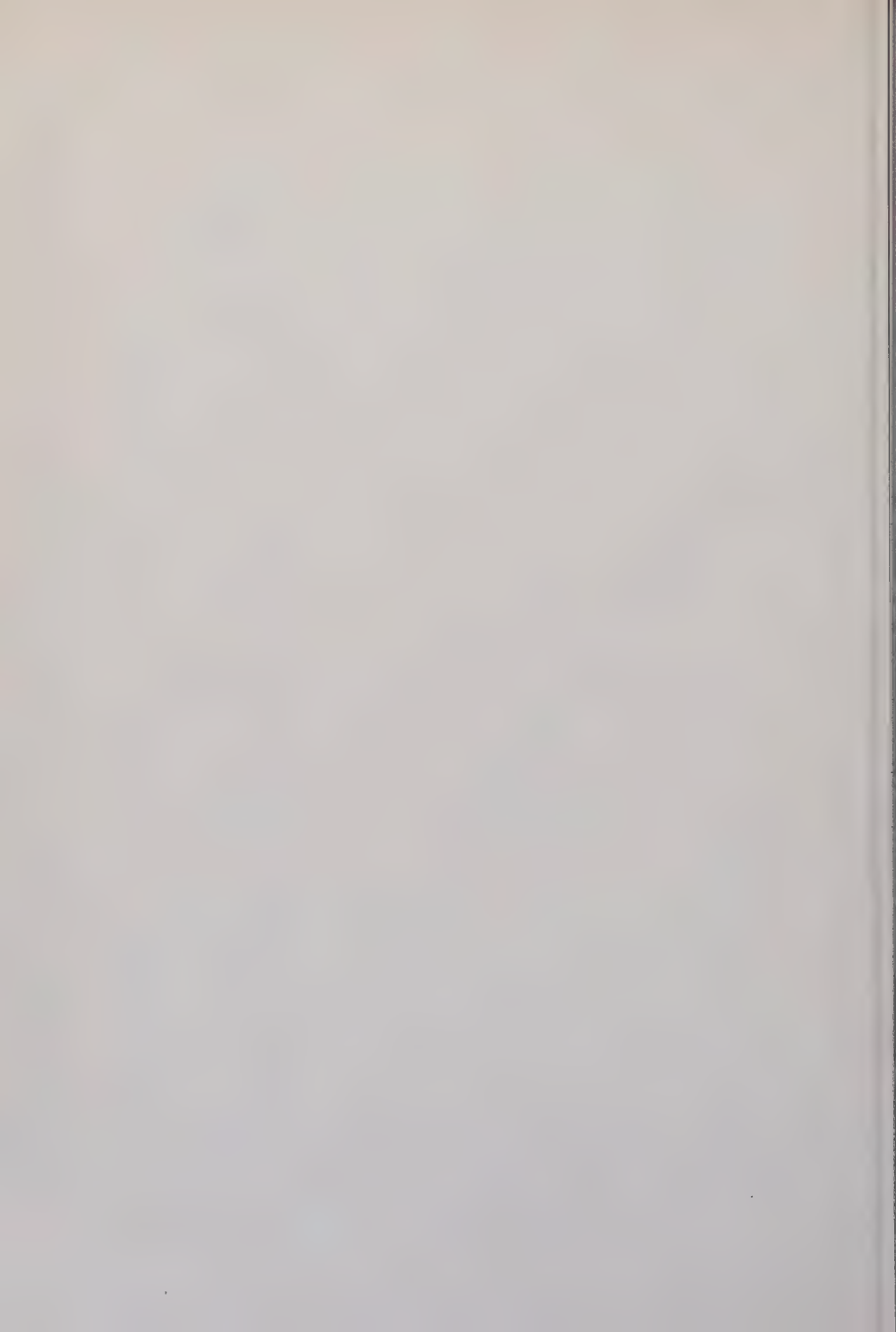


Abb. 6. Dosis-Wirkungs-Kurven mit 95 %-Vertrauensgrenzen für 12 Tage alte Ratten. Die Schnittpunkte der 50%-Linie mit den Probit-Regressionsgeraden entsprechen den einzelnen LD 50(30)-Werten. Die nicht genügend gesicherte Gerade für das 48-Stunden-Intervall wurde nicht eingezeichnet.

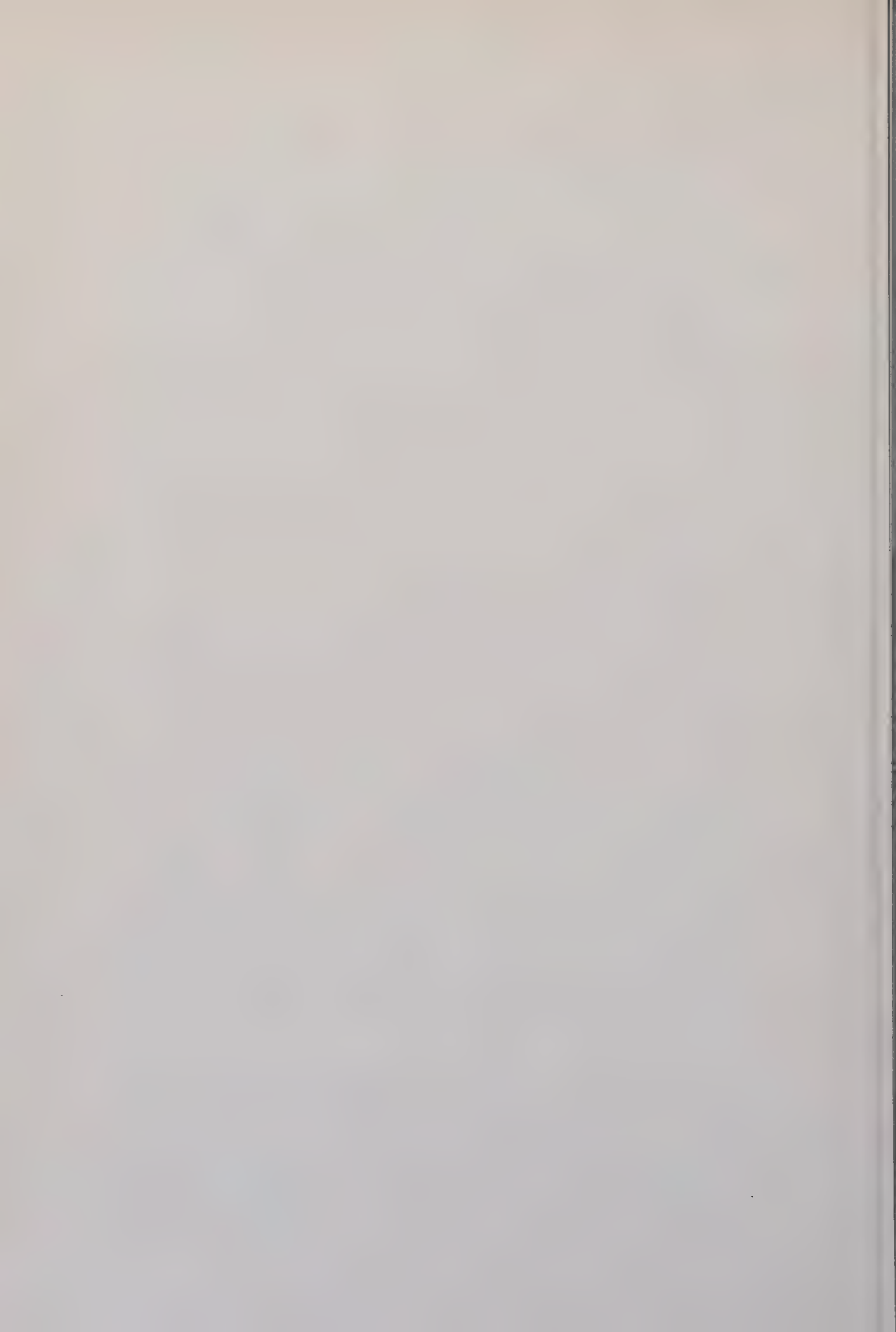


fanden wir die gleiche Dosis-wirkungs-Beziehung. Die beobachteten Werte wurden deshalb kombiniert und durch eine gemeinsame Gerade wiedergegeben. Im Abstand von 48 Stunden zur Vorbestrahlung erhielten wir Werte, die von der erwarteten Linearität im Probitsystem stark abwichen. Die berechnete Dosis-Wirkungs-Kurve erscheint daher ungenügend gesichert und wurde nicht in Abb. 6 eingezeichnet; die errechneten Werte sind aber in Tabelle 5 (nach S. 19) aufgeführt.

Drei Kurven sind mit ihren Vertrauensgrenzen angegeben. Die 95 %-Vertrauensgrenzen bezeichnen den Bereich, in dem die Regressionsgerade bei einer Wiederholung des Versuchs mit 95 % Wahrscheinlichkeit zu erwarten wäre (vgl. S. 14).

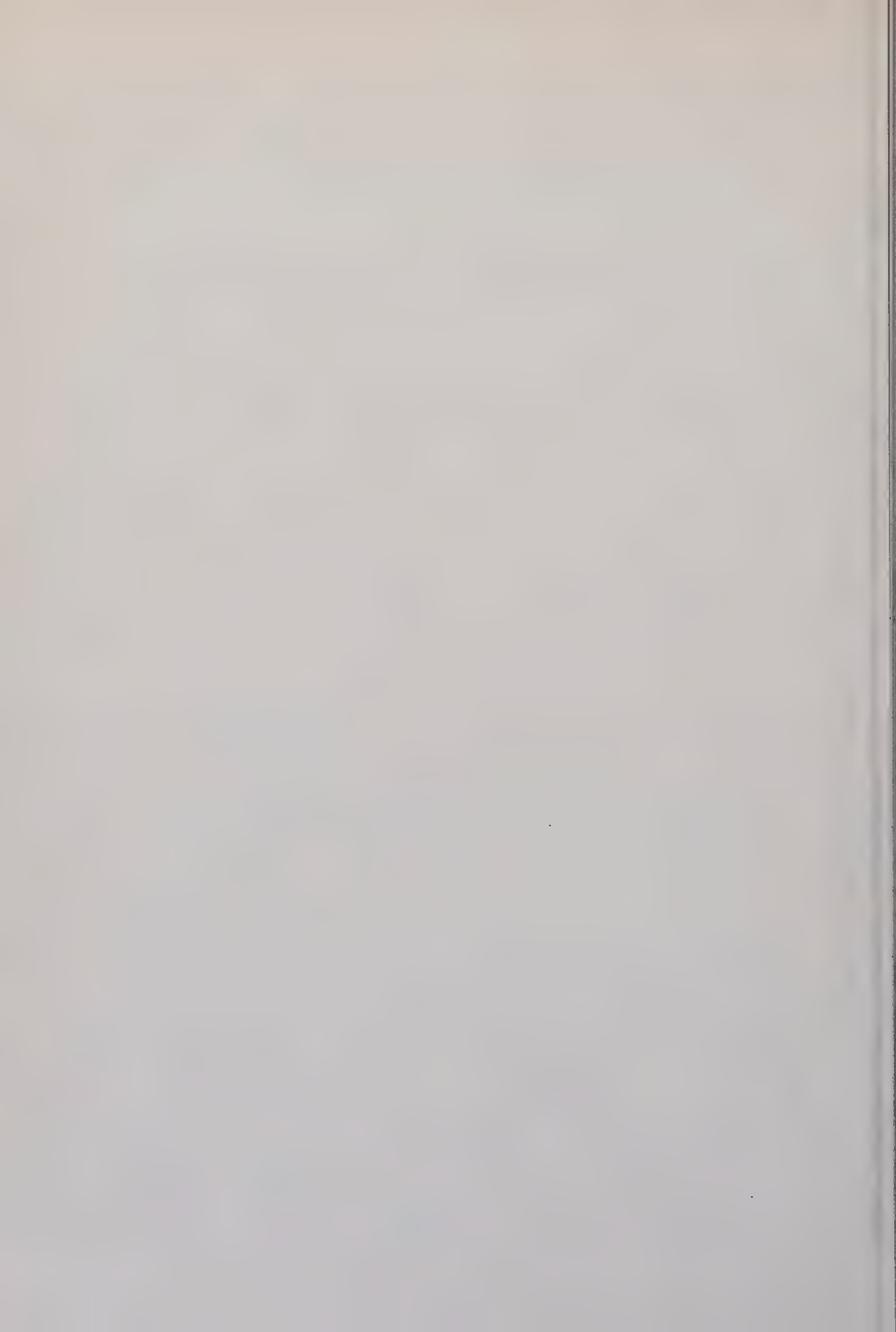
Die LD 50-Werte der einmal exponierten Jungtiere und die der 12 und 18 Stunden nach Bedingungs-dosis untersuchten Ratten unterscheiden sich offenbar signifikant, wie sich aus der Lage der Vertrauensgrenzen schließen läßt: Benachbarte Äste der Vertrauensgrenzen dieser Kurven überlappen sich nicht im Bereich der 50 %-Linie, und die LD 50-Werte brauchten auch nicht extrapoliert zu werden (vgl. S. 14). Dagegen wurde die LD 50 sechs und 24 Stunden nach D_c durch Extrapolation bestimmt; dennoch scheint sie wenigstens von der 12 Stunden nach Vorbestrahlung ermittelten abzuweichen, der große Abstand rechtfertigt diese Vermutung.

Im einzelnen fanden wir folgendes Verhalten der LD 50 nach der Bedingungs-dosis von 200 R: Nach 6 Stunden fiel sie steil ab, stieg aber nach 12 Stunden wieder beträchtlich an. Die LD 50 sank erneut nach 18 und 24 Stunden, erreichte jedoch



Alter	Behandlung	Tier- zahl	Gleichung der Regressionsgeraden	LD 50 $\div s_E R$	Log R	Log R	$\div s_D R$
12 Tage	Kombiniert 6 + 24	345	$Y = -14,66 + 8,43 x$	$2,332 \div 0,032$	$214 \begin{smallmatrix} +18 \\ -14 \end{smallmatrix}$	$\div 0,119$	$163 - 282$
	12	184	$Y = -14,96 + 20,30 x$	$2,461 \div 0,009$	$289 \begin{smallmatrix} +6 \\ -6 \end{smallmatrix}$	$\div 0,049$	$258 - 324$
	18	80	$Y = -14,24 + 8,14 x$	$2,362 \div 0,072$	$230 \begin{smallmatrix} +42 \\ -35 \end{smallmatrix}$	$\div 0,123$	$174 - 306$
	48	121	$Y = -23,08 + 11,45 x$	$2,452 \div 0,033$	$283 \begin{smallmatrix} +23 \\ -21 \end{smallmatrix}$	$\div 0,087$	$242 - 346$
	Keine D _c	550	$Y = -30,68 + 13,66 x$	$2,612 \div 0,009$	$410 \begin{smallmatrix} +8 \\ -8 \end{smallmatrix}$	$\div 0,073$	$346 - 484$
	Kombiniert 6 + 9	286	$Y = -2,48 + 3,09 x$	2,421	264	$\div 0,324$	$125 - 556$
24 Tage	12	279	$Y = -18,12 + 9,55 x$	$2,420 \div 0,016$	$263 \begin{smallmatrix} +10 \\ -9 \end{smallmatrix}$	$\div 0,105$	$206 - 335$
	18	116	$Y = -27,72 + 13,70 x$	$2,388 \div 0,006$	$244 \begin{smallmatrix} +4 \\ -3 \end{smallmatrix}$	$\div 0,073$	$207 - 285$
	24	102	$Y = -25,85 + 12,49 x$	$2,470 \div 0,043$	$295 \begin{smallmatrix} +31 \\ -27 \end{smallmatrix}$	$\div 0,080$	$256 - 355$
	48	234	$Y = -7,98 + 5,32 x$	$2,439 \div 0,138$	$275 \begin{smallmatrix} +108 \\ -75 \end{smallmatrix}$	$\div 0,168$	$178 - 424$
	Keine D _c	734	$Y = -8,68 + 5,19 x$	$2,635 \div 0,024$	$431 \begin{smallmatrix} +25 \\ -23 \end{smallmatrix}$	$\div 0,193$	$674 - 277$
	6	118	$Y = -9,41 + 6,25 x$	$2,305 \div 0,067$	$202 \begin{smallmatrix} +34 \\ -27 \end{smallmatrix}$	$\div 0,160$	$140 - 292$
32 Tage	Kombiniert 9+15+18+24	508	$Y = -11,14 + 6,69 x$	$2,412 \div 0,011$	$258 \begin{smallmatrix} +7 \\ -6 \end{smallmatrix}$	$\div 0,149$	$183 - 364$
	12	110	$Y = -12,76 + 7,25 x$	$2,449 \div 0,044$	$282 \begin{smallmatrix} +29 \\ -28 \end{smallmatrix}$	$\div 0,138$	$207 - 386$
	48	119	$Y = -5,80 + 4,64 x$	$2,327 \div 0,179$	$212 \begin{smallmatrix} +109 \\ -70 \end{smallmatrix}$	$\div 0,216$	$128 - 349$
	Keine D _c	383	$Y = -24,82 + 11,27 x$	$2,646 \div 0,008$	$443 \begin{smallmatrix} +8 \\ -8 \end{smallmatrix}$	$\div 0,089$	$360 - 544$

Tabelle 5. Gleichungen der berechneten Probit-Regressionsgeraden und LD 50(30)-Werte mit Standardabweichungen für 12, 24 und 32 Tage alte Ratten. s_E = Standardabweichung der mittleren tödlichen Dosis (LD 50). s_D = Standard-

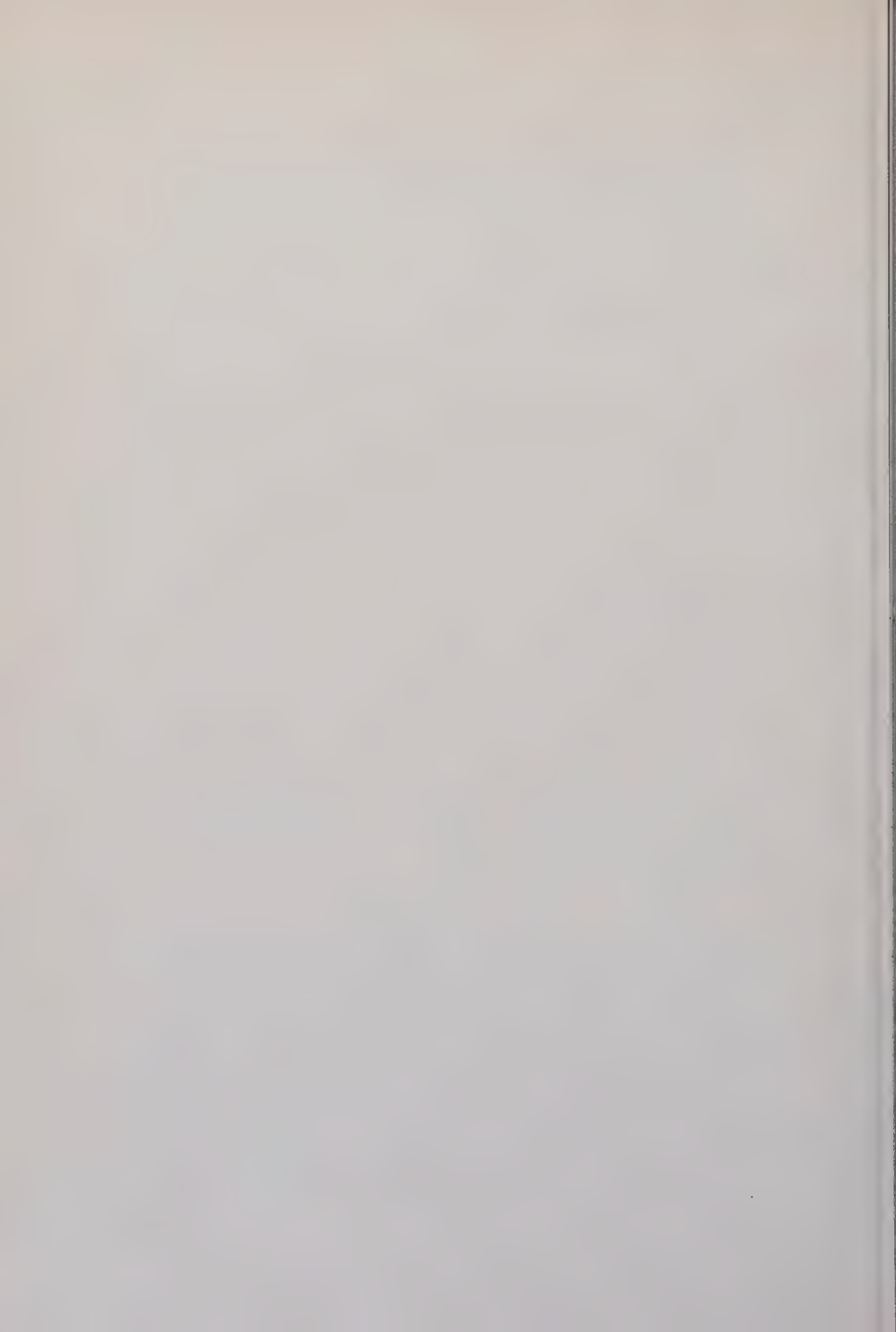


innerhalb der nächsten 24 Stunden einen zweiten Höchststand. Die errechneten Werte finden sich in Tabelle 5 (nach S. 19).

3.2 Ergebnisse Tag 24

Im Alter von 24 Tagen wurden 1751 männliche und weibliche Ratten bestrahlt. Davon erhielten 734 Jungtiere eine einmalige Ganzbestrahlung und 1017 eine split-Dosis-Behandlung. An den mit 200 R vorbestrahlten Ratten bestimmten wir die LD 50(30) außer zu den bereits erwähnten Zeitabständen 6, 12, 18, 24 oder 48 Stunden zusätzlich noch 9 Stunden nach der Bedingungs-dosis (vgl. Tabelle 1, nach S. 5). Die 1017 zweimal bestrahlten Ratten wurden wie folgt auf die einzelnen Stundenabstände verteilt: 114, 172, 279, 116, 102 und 234 Tiere. Zur Ermittlung der LD 50 gaben wir den nur einmal exponierten Tieren Testdosen zwischen 370 und 500 R, den vorbestrahlten Testdosen zwischen 210 und 500 R; die Daten finden sich im einzelnen in Tabelle 4b (nach S. 16).

Die in Abb. 7 (nach S. 20) gezeigten Absterbekurven wurden mittels Zufallszahlen herausgesucht. Auf den Zeichnungen sind übereinander die Überlebensprozentkurven der ein- und zweimal exponierten Gruppen eines Versuchsabschnittes dargestellt. Vom Mai 1965 stammt die Abbildung 7a. Zwölf Stunden nach der Bedingungs-dosis erhielten die Tiere ihre Testdosis zur LD 50-Bestimmung. Die Bestrahlung mit 360 und 400 R



JULI 1965

ALTER 24 TAGE

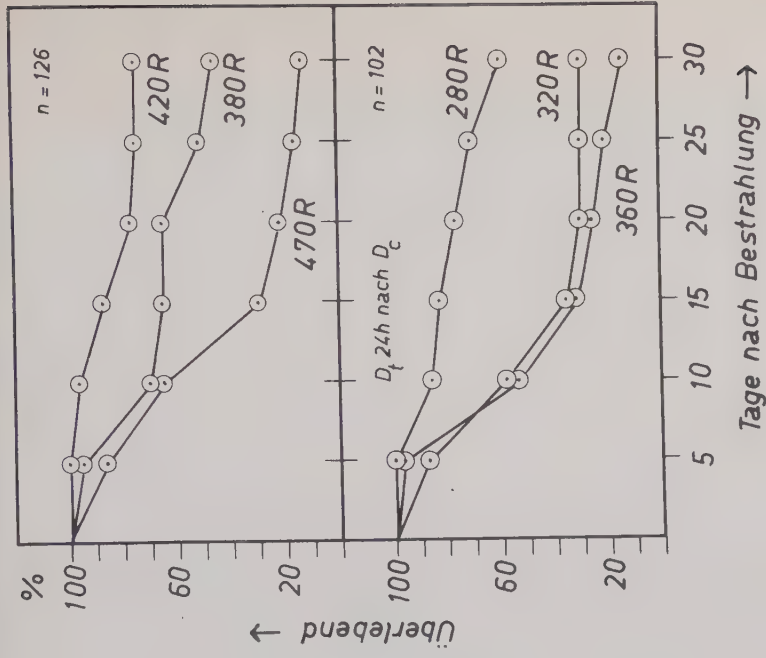


Abb. 7b.

Absterbekurven nach Testdosen zur LD 50(30)-Bestimmung an 24 Tage alten Ratten. Oben: Kontrollgruppen, nur einmal exponiert. Unten: Tiere zweimal exponiert, vor der Testdosis wurde zusätzlich die Bedingungs-dosis von 200 R appliziert.

MAI 1965

ALTER 24 TAGE

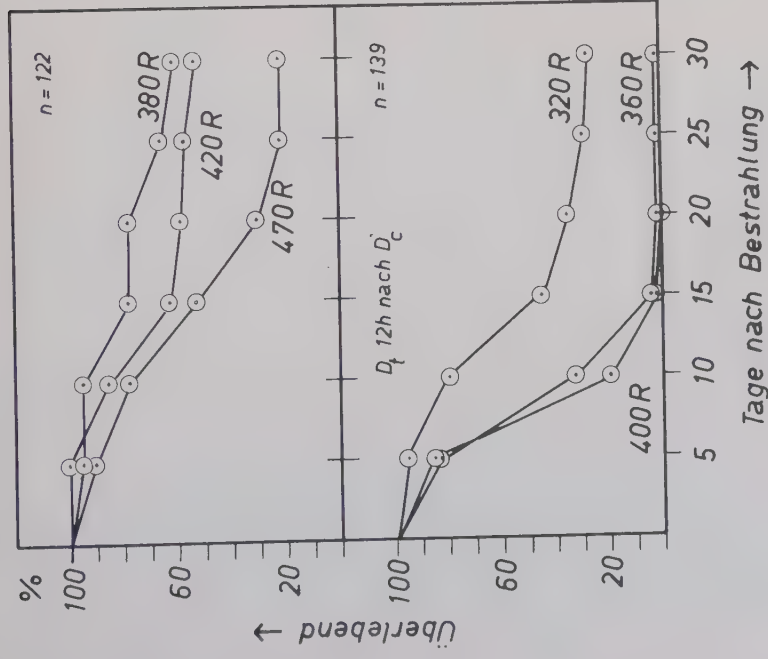
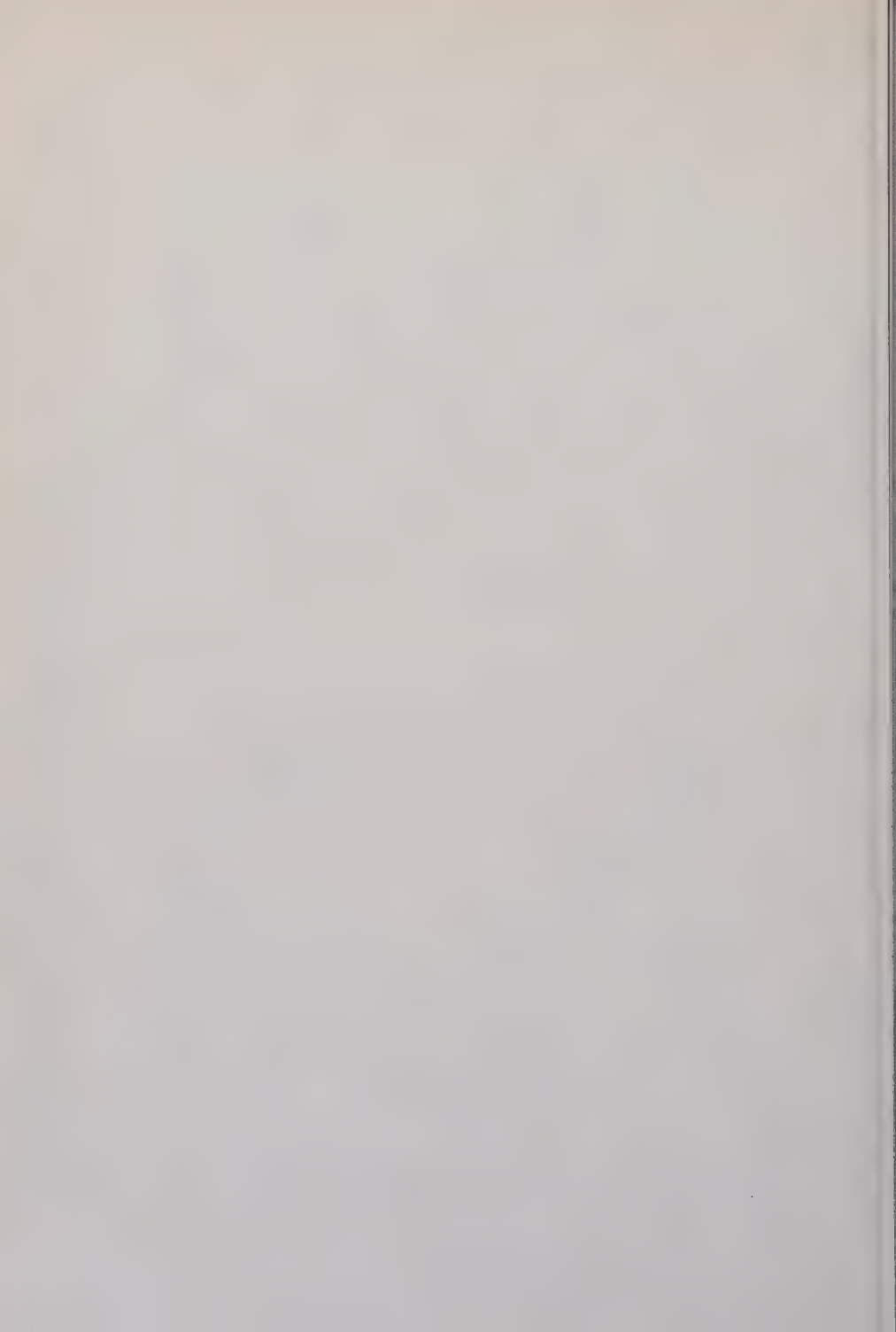


Abb. 7a.

Absterbekurven nach Testdosen zur LD 50(30)-Bestimmung an 24 Tage alten Ratten. Oben: Kontrollgruppen, nur einmal exponiert. Unten: Tiere zweimal exponiert, vor der Testdosis wurde zusätzlich die Bedingungs-dosis von 200 R appliziert.

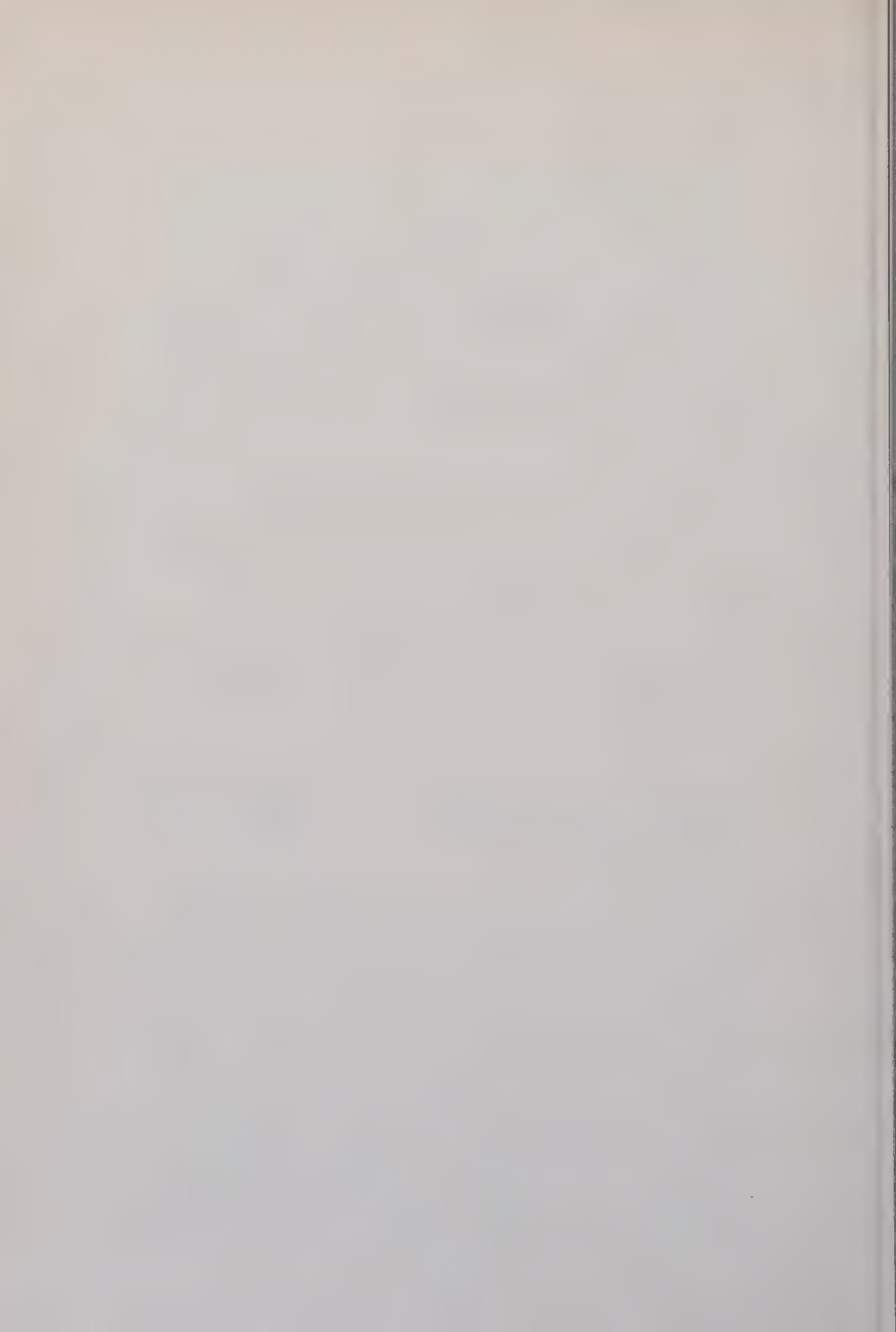


läßt hier keine unterschiedliche Wirkung erkennen. Abb. 7b vom Juli 1965 zeigt Absterbekurven von Ratten, an denen 24 Stunden nach Vorbestrahlung die LD 50 geschätzt wurde. Die Absterbekurven der nicht vorbelasteten Tiere veranschaulichen die Reaktionsschwankungen, die während der Versuchsserie auftraten. Sie waren in diesem Alter am größten. In einem der Kollektive lag die Mortalität nach einer Dosis von 380 R sogar um 29 % höher als nach 420 R (Abbildung 7b).

Da erwartungsgemäß nicht alle Jungtiere die Jugendperiode überleben, waren außer den exponierten Gruppen auch unbestrahlte C-Kollektive zur Kontrolle der "Spontansterblichkeit" zu beobachten. Einen Überblick gibt Tabelle 3 (nach S. 15). Die Jugendsterblichkeit erreichte im April ihren Höchstwert von 15 % für Tag 24; während der Sommermonate schwankte sie zwischen 0 und 4 %.

Die mittels Probitanalyse aus den Absterbedaten berechneten Dosis-Wirkungs-Kurven finden sich in Abbildung 8 (nach S. 21). Die Ordinate gibt die Mortalität sowohl in Prozent als auch in Probiteinheiten an. Auf der Abszisse ist die Dosis im $\log R$ und in R dargestellt. Die Schnittpunkte der 50 %-Linie mit den Probit-Regressionsgeraden entsprechen den einzelnen LD 50(30)-werten. Tabelle 5 (nach S. 19) enthält die dazugehörigen Gleichungen und Standardabweichungen.

In Abb. 8 (nach S. 21) verzichteten wir auf eine Darstellung der Probit-Regressionsgeraden für die 6-, 9- und 48-Stunden-Intervalle zwischen den split-Dosen. In diesen Fällen war die Anpassung der beobachteten Werte an die Regressions-



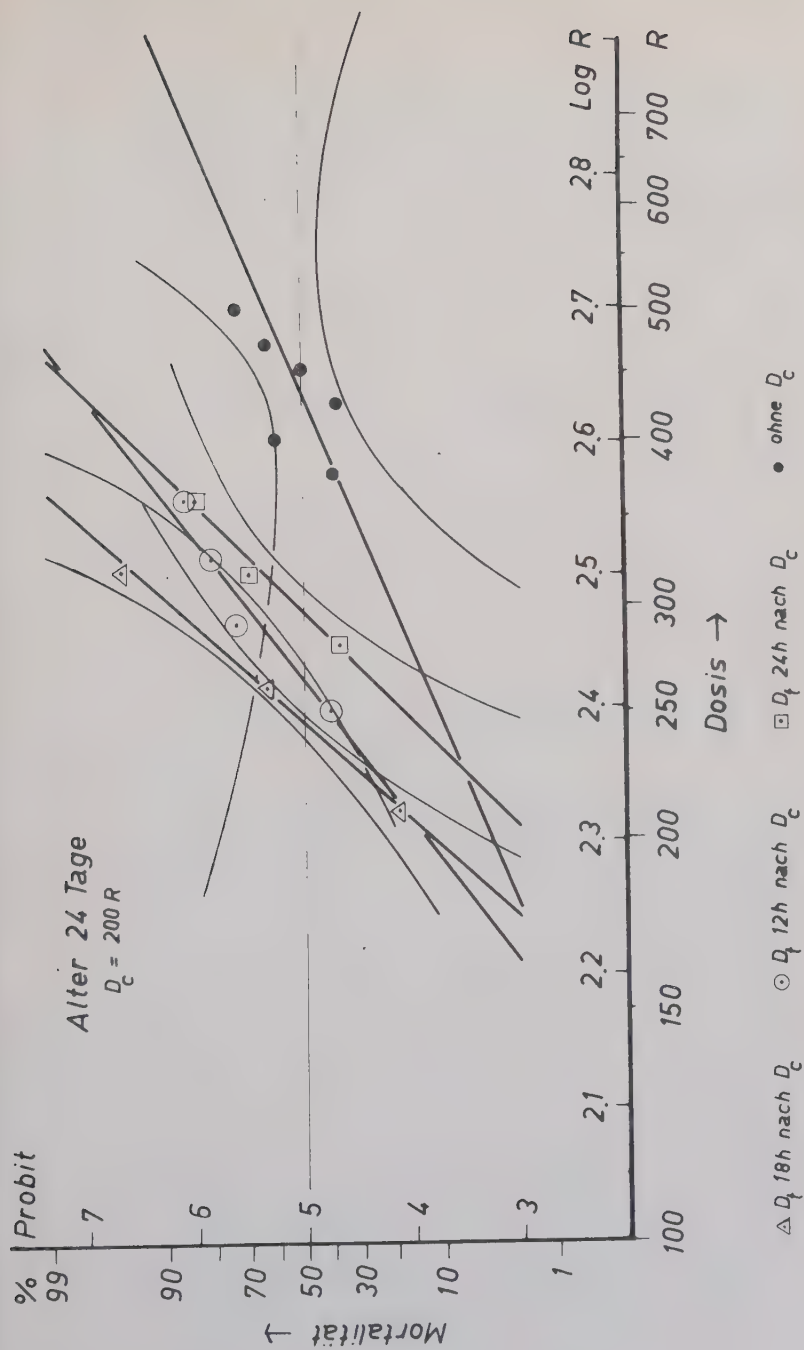
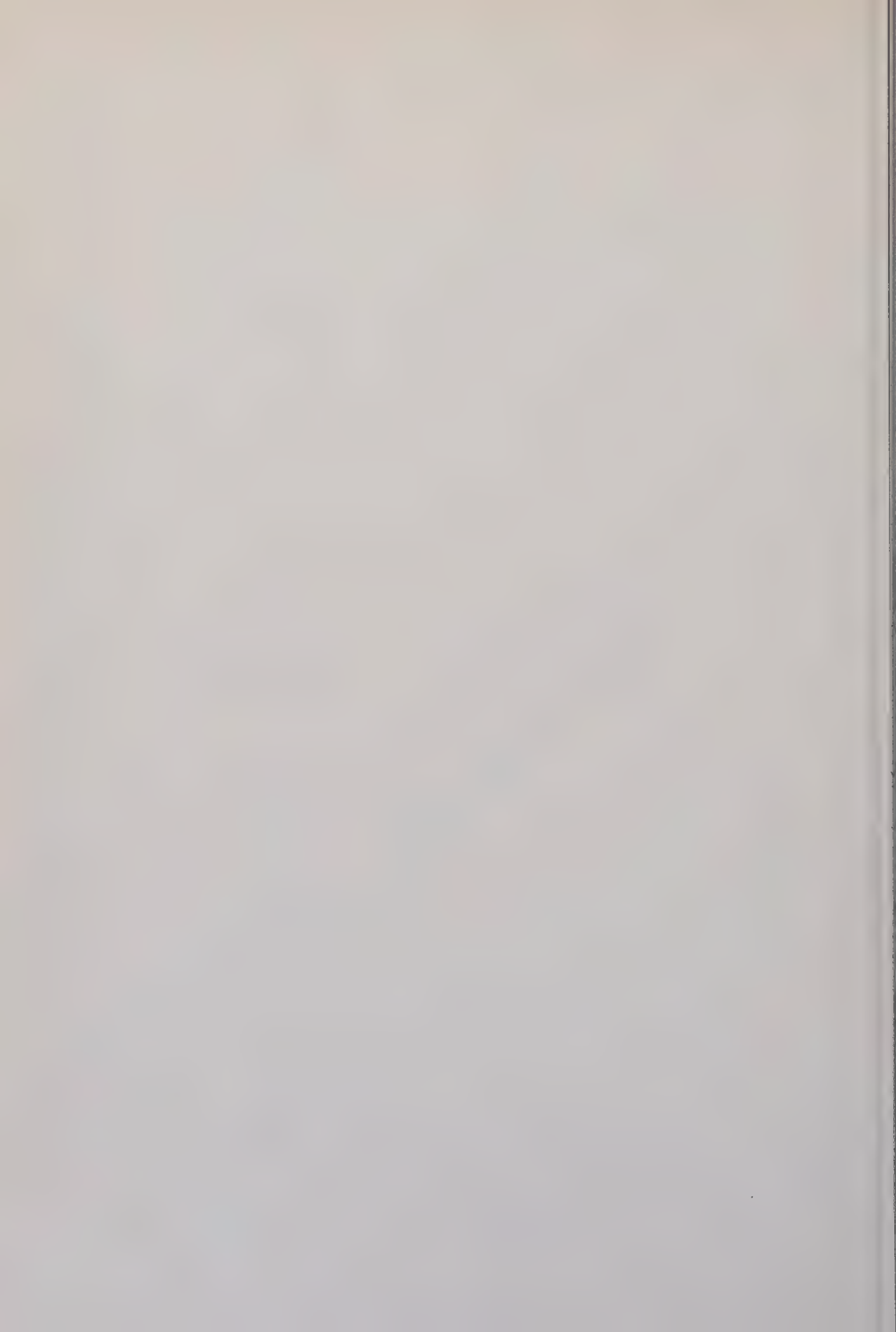


Abb. 8. Dosis-Wirkungs-Kurven mit 95%-Vertrauensgrenzen für 24 Tage Ratten. Die Schnittpunkte der 50%-Linie mit den Probit-Regressionsgeraden entsprechen den einzelnen LD 50(30)-Werten. Die ungenügend gesicherte Gerade für das 48-Stunden-Intervall wurde nicht eingezeichnet.

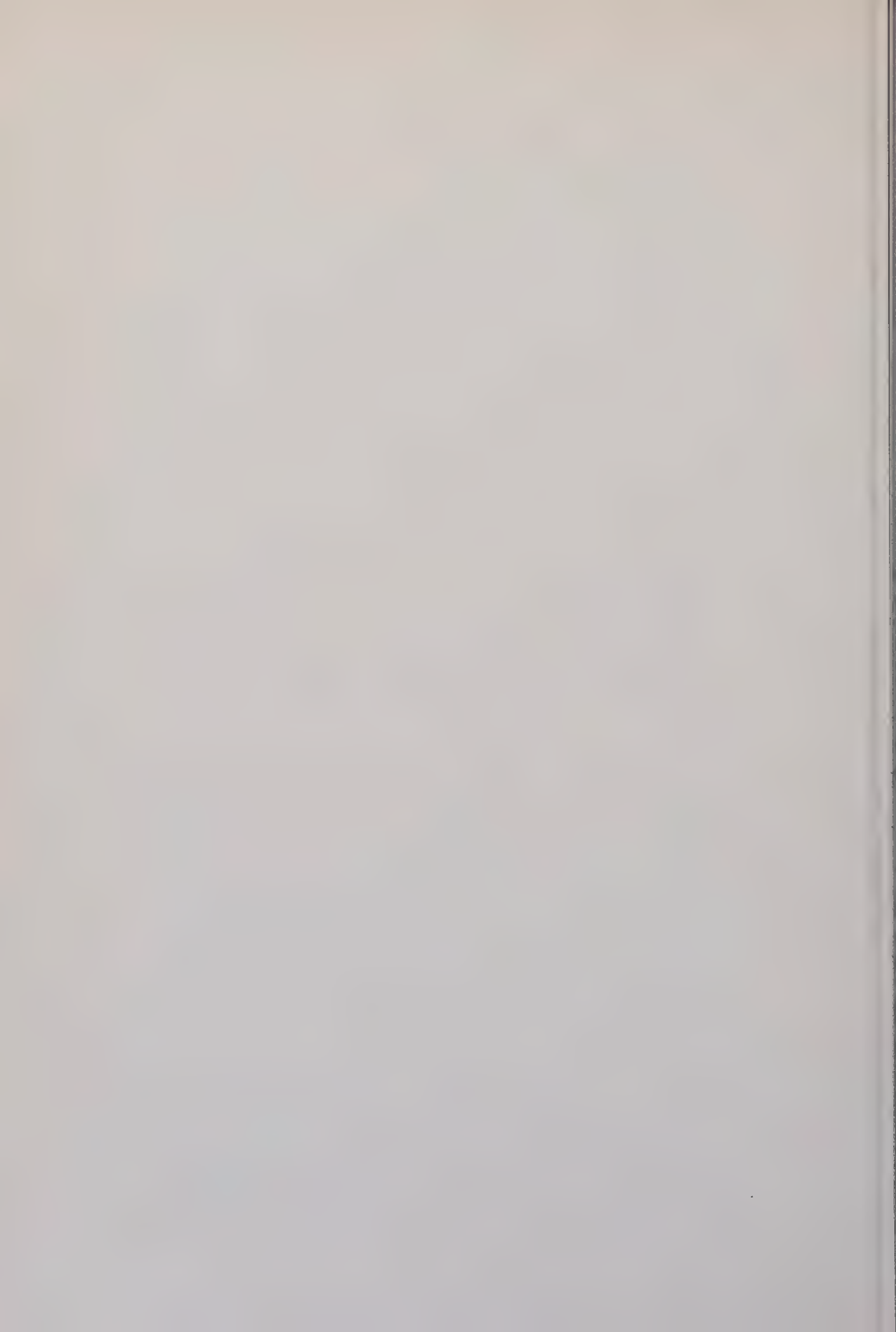


geraden so ungenügend, daß die Geraden nicht als gesichert gelten konnten.

Drei der eingezeichneten Kurven sind mit 95 %-Vertrauensgrenzen angegeben. Diese umschließen eng die Regressionsgerade für das 18-Stunden-Intervall, werden aber beträchtlich weiter für die Kurve des 24-Stunden-Abstandes und für die Gerade der nur einmal bestrahlten Ratten. Die Vertrauensgrenzen der Regressionsgeraden des 12-Stunden-Intervalls wurden nicht dargestellt, weil sie sich mit denen des 24-Stunden-Abstandes im Bereich der 50 %-Linie weit überschneiden. Diese empirischen Punkte für das 12-, 18- und 24-Stunden-Intervall sind etwa gleichmäßig um den 50 %-Wert verteilt. Die Vertrauensgrenzen der Regressionsgeraden für den 18- und 24-Stunden-Abstand überlappen sich nicht; daher darf man annehmen, daß diese Kurven und die entsprechenden LD_{50} -Werte signifikant voneinander abweichen.

Für die einmal bestrahlten Tiere (Kollektiv B) beträgt die LD_{50} $431 \pm 24 R$, die Regressionsgerade liegt weit rechts im Bild. Der Bereich der 95 %-Vertrauensgrenzen ist hier verhältnismäßig breit; die Ursachen dafür könnten auf Heterogenität des Tiermaterials zurückgehen (vgl. S. 13) oder auf die unvermeidliche Abhängigkeit der Strahlenreaktion von gemeinsamen Umwelteinflüssen, wie sie zwischen Wurfgeschwistern bestand.

Die 12, 18 und 24 Stunden zuvor mit 200 R behandelten Tiere (Kollektiv A) zeigen LD_{50} -werte von 263, 244 bzw. 295 R. Dieses Ergebnis unterscheidet sich von dem der 12 Tage alten Ratten. Dort hatten die zweimal exponierten Jungtiere die höchste LD_{50} im Abstand von 12 Stunden zur



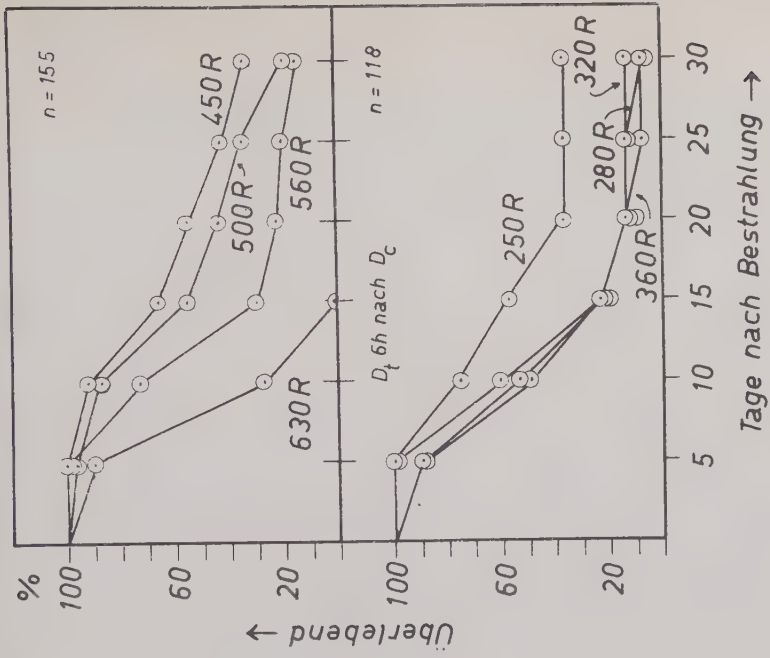


Abb. 9b.

Absterbekurven nach Testdosen zur LD 50(30)-Bestimmung an 32 Tage alten Ratten. Oben: Kontrollgruppen, nur einmal exponiert; unten: Tiere zweimal exponiert, vor der Testdosis wurde zusätzlich die Bedingungs-dosis von 260 R appliziert. n = Tierzahl, D_c = Bedingungs-dosis, D_t = Testdosis.

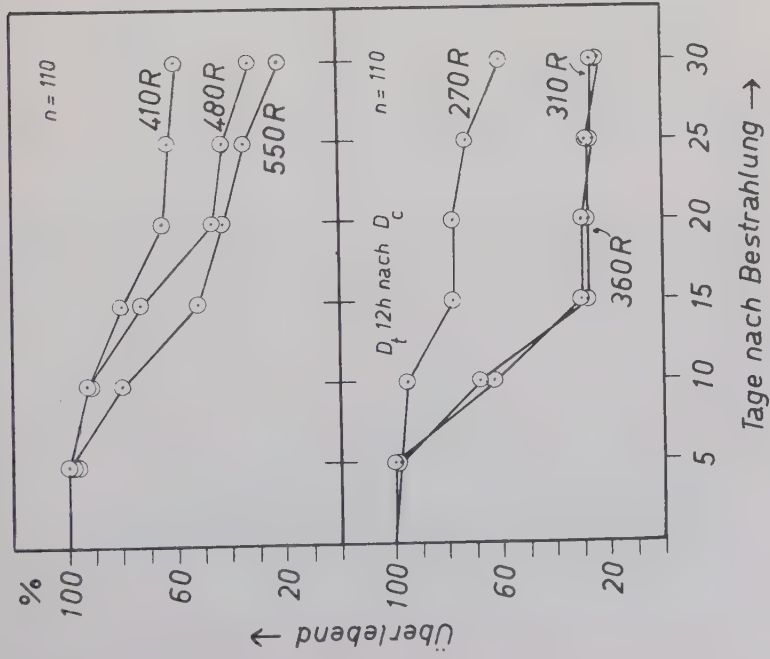
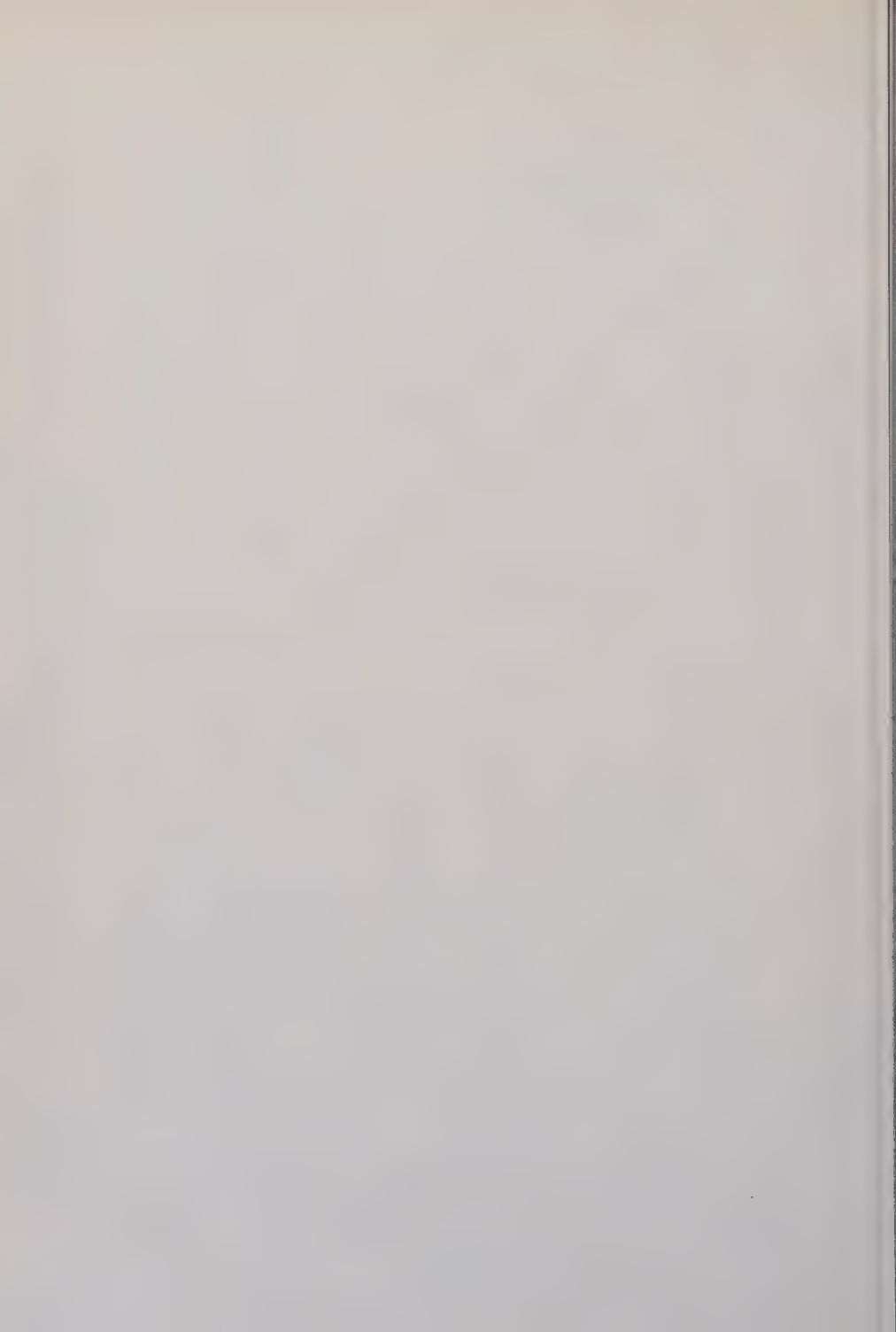


Abb. 9a

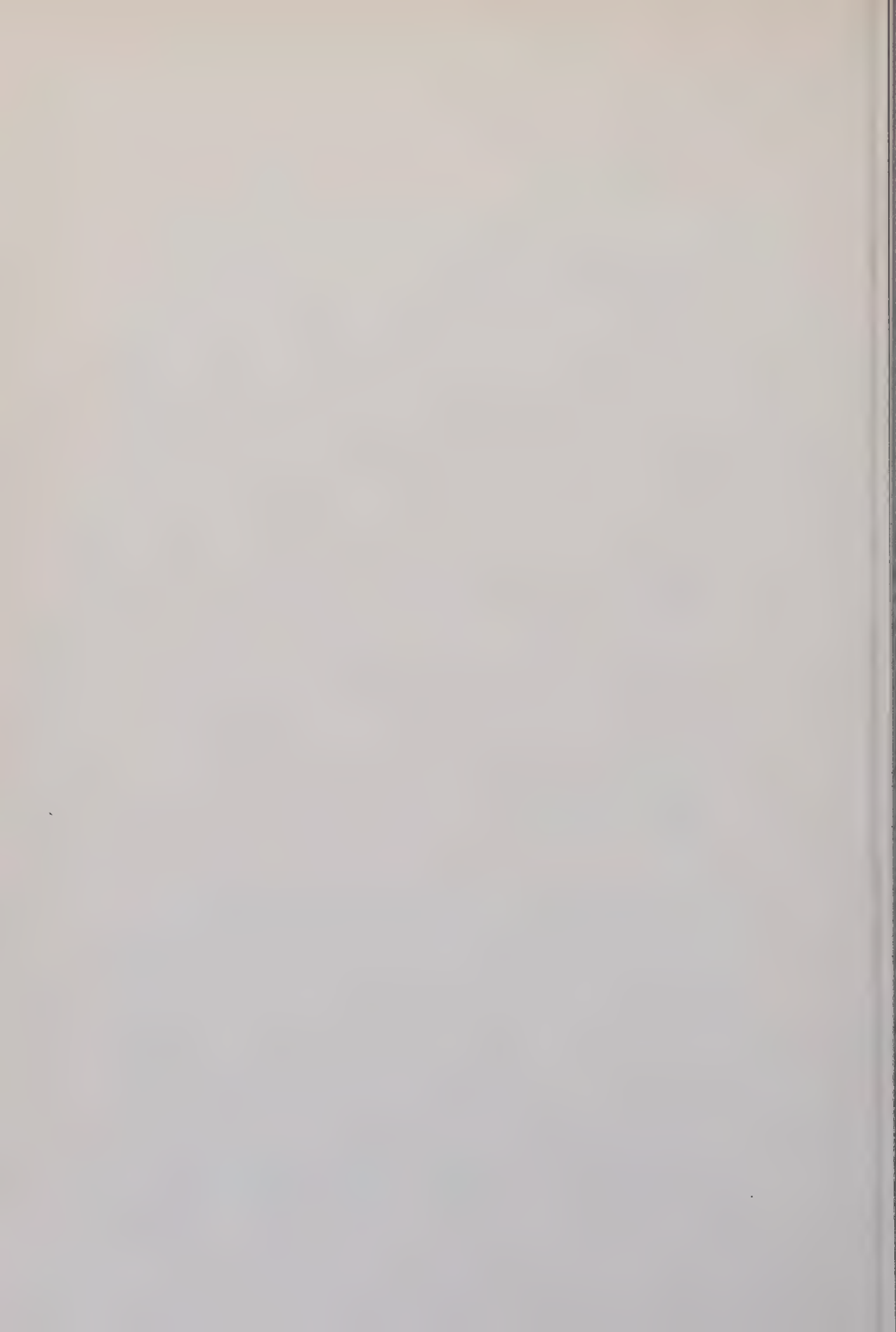


Bedingungs-dosis, hier trat sie erst nach 24 Stunden auf.

3.3 Ergebnisse Tag 32

Die Versuchsserie mit den 32 Tage alten Ratten dauerte von Juli bis Oktober 1965. In drei Versuchsabschnitten bestrahlten wir insgesamt 1238 weibliche und männliche Jungtiere. 383 Ratten erhielten keine Vorbestrahlung; 855 Tiere bekamen die Bedingungs-dosis von 260 R. An diesen Ratten wurde die LD 50(30) im Abstand von 6, 9, 12, 15, 18, 24 oder 48 Stunden nach der Vorbestrahlung ermittelt. Zu den einzelnen Stundenabständen gehören folgende Tierzahlen: 118, 140, 110, 110, 139, 119 und 119 Ratten. Die zur LD 50-Bestimmung verabreichten Dosen schwankten bei den nur einmal exponierten Tieren zwischen 410 und 630 R. Die mit 260 R vorbestrahlten Jungtiere bekamen zur Ermittlung der LD 50 zusätzliche Testdosen zwischen 220 und 500 R. Tabelle 4c (nach S. 16) faßt die Daten der einzelnen Versuchsgruppen zusammen.

Unter Benutzung des Zufallsschemas suchten wir aus den Absterbekurven der 32 Tage alten Ratten die in Abb. 9 (nach S. 22) dargestellten heraus. Vom Anfang der Versuche im Juli 1965 stammt Abbildung 9a. Sechs Stunden nach der Bedingungs-dosis wurde die LD 50 mittels Testdosen zwischen 250 und 360 R bestimmt. Es fällt auf, daß hier drei verschiedene Dosen, 280, 320 und 360 R, zu fast übereinstimmenden Absterbekurven führen. Ein ähnlicher Fall trat auf nach den Dosen 310 und 360 R, die 12 Stunden nach Vorbestrahlung



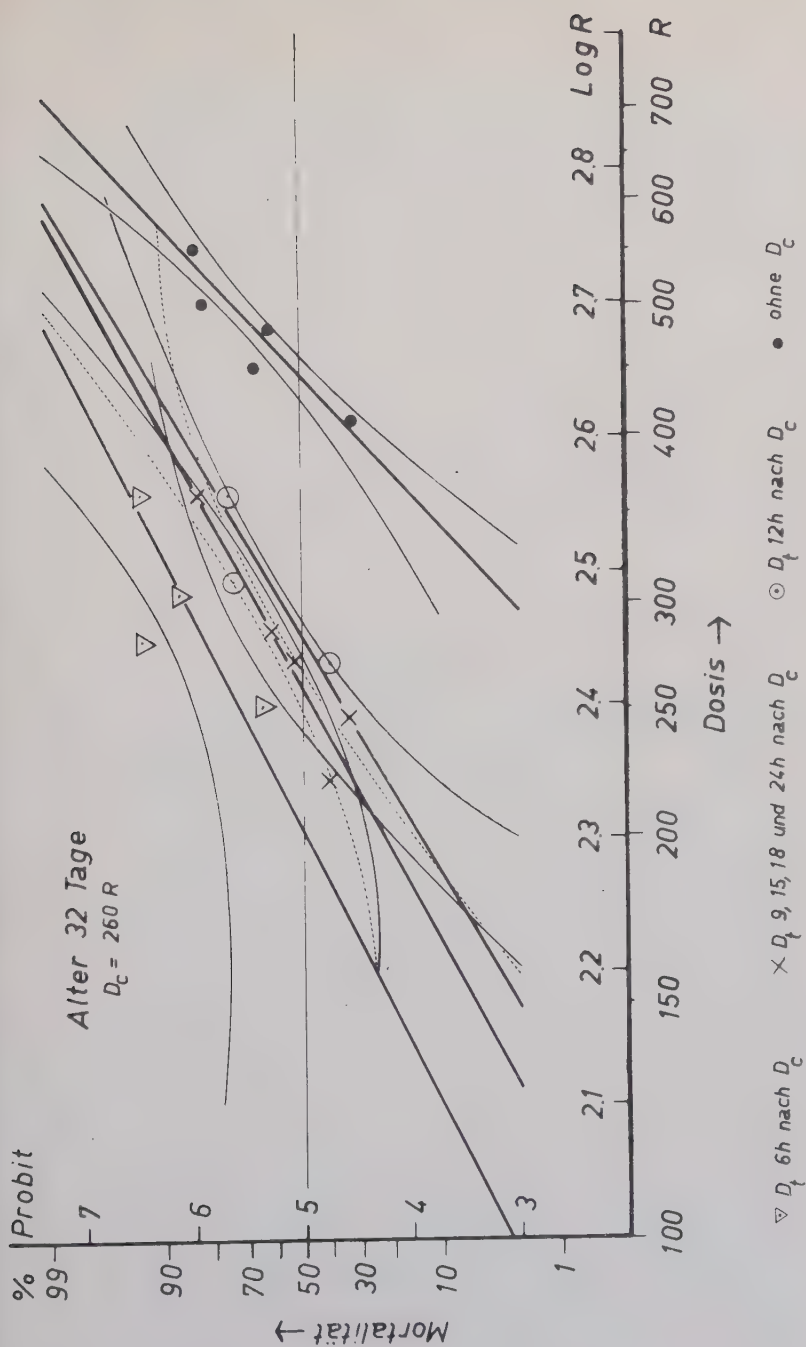
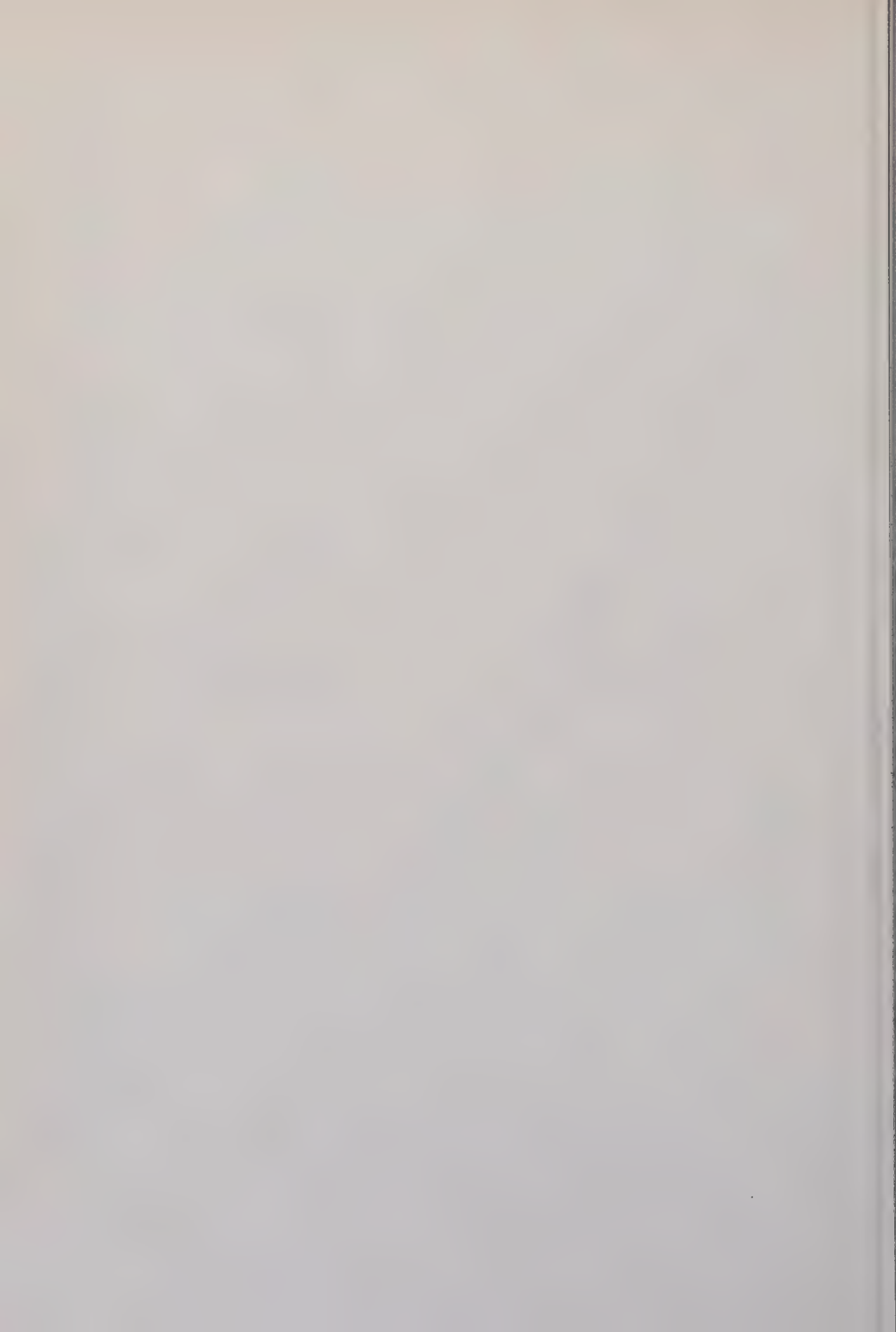


Abb. 10. Dosis-Wirkungs-Kurven mit 95%-Vertrauensgrenzen für 32 Tage alte Ratten. Die Schnittpunkte der 50%-Linie mit den Probit-Regressionsgeraden entsprechen den einzelnen LD 50(30)-Werten. Die ungenügend gesicher- te Gerade für das 48-Stunden-Intervall wurde nicht eingezeichnet.



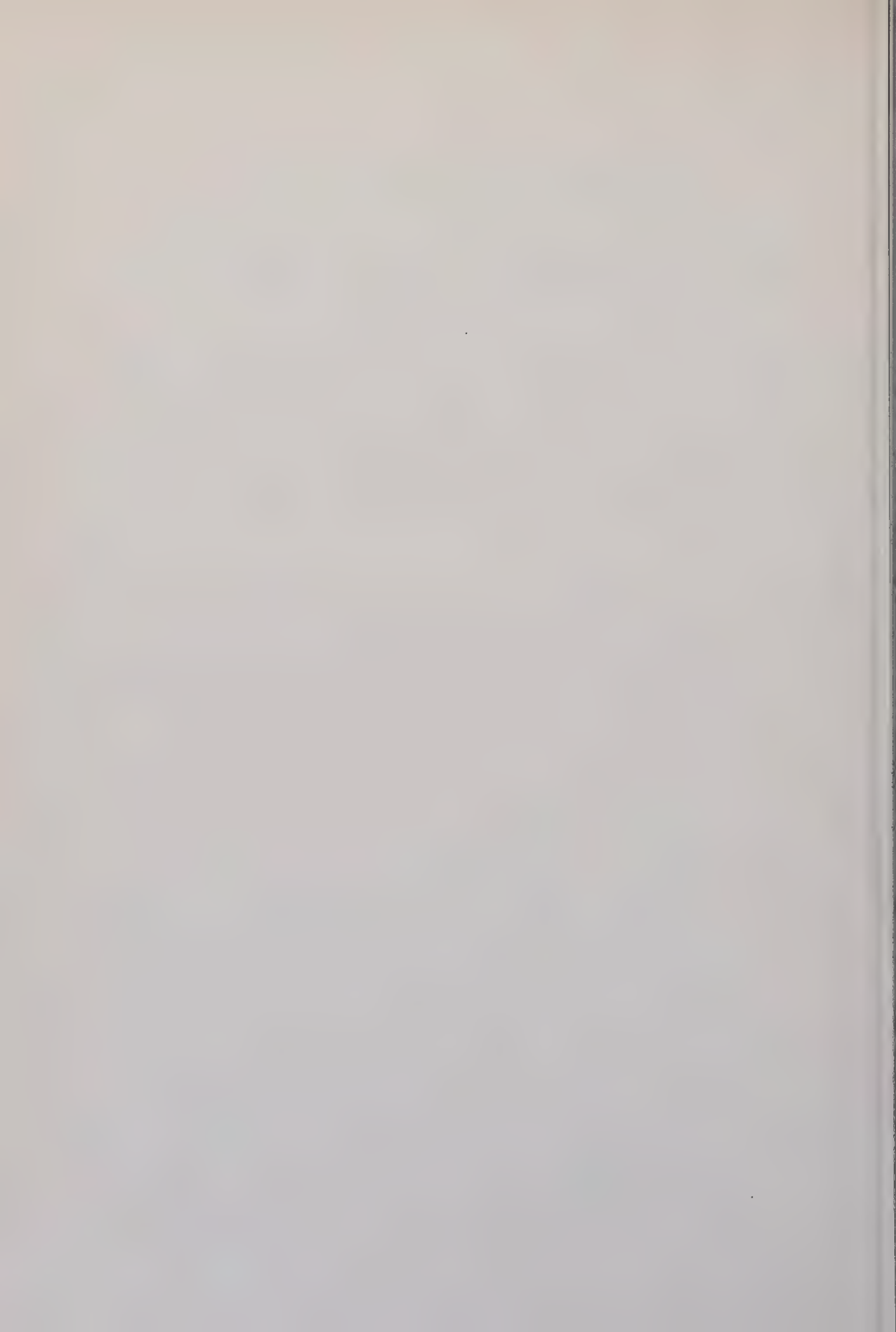
verabreicht wurden. (Abb. 9a, nach S. 22)

Die oberen Abschnitte der Abb. 9 zeigen Kurven nur einmal bestrahlter Tiere (Kollektiv B) vom Juli und August 1965. Die im August gegebenen Testdosen setzten wir etwas herab auf Grund der Zwischenauswertung des Juliversuchs.

Die Spontansterblichkeit mußte auch noch für die 32 Tage alten Ratten berücksichtigt werden. Aus Tabelle 3 (nach S. 15) entnehmen wir, daß die Spontanmortalität während der Versuchszeit zwischen 0 und 4 % schwankte; wie in den beiden jüngeren Altersgruppen trat der geringste Wert im Monat August auf.

In der Schlußauswertung wurden die während der gesamten Versuchsdauer beobachteten Werte zusammengefaßt und mittels Probitanalyse Dosis-Wirkungs-Kurven berechnet. Die zugehörigen Gleichungen sowie die LD 50(30)-werte mit den Standardabweichungen s_d und s_E finden sich in Tabelle 5 (nach S. 19). Bis auf die ungenügend gesicherte Regressionsgerade des 48-Stunden-Intervalls wurden alle Dosis-Wirkungs-Kurven in Abb. 10 (nach S. 23) dargestellt und die 95 %-Vertrauensgrenzen eingezeichnet. Ordinate und Abszisse zeigen die bereits beschriebenen Maßstäbe. Die Schnittpunkte der 50 %-Linie mit den Regressionsgeraden entsprechen den einzelnen LD 50-Werten.

Ganz rechts im Bild sehen wir die Dosis-Wirkungs-Kurve der nicht vorbestrahlten Jungtiere. Die LD 50 beträgt $443 \pm 8 R s_E$; die Kurve verläuft ziemlich steil. Links im Bild liegen die Regressionsgeraden der mit 260 R vorbestrahlten Tiere (Kollektiv A). Die LD 50 wurde zu den bekannten Zeitabständen nach der Bedingungs-dosis



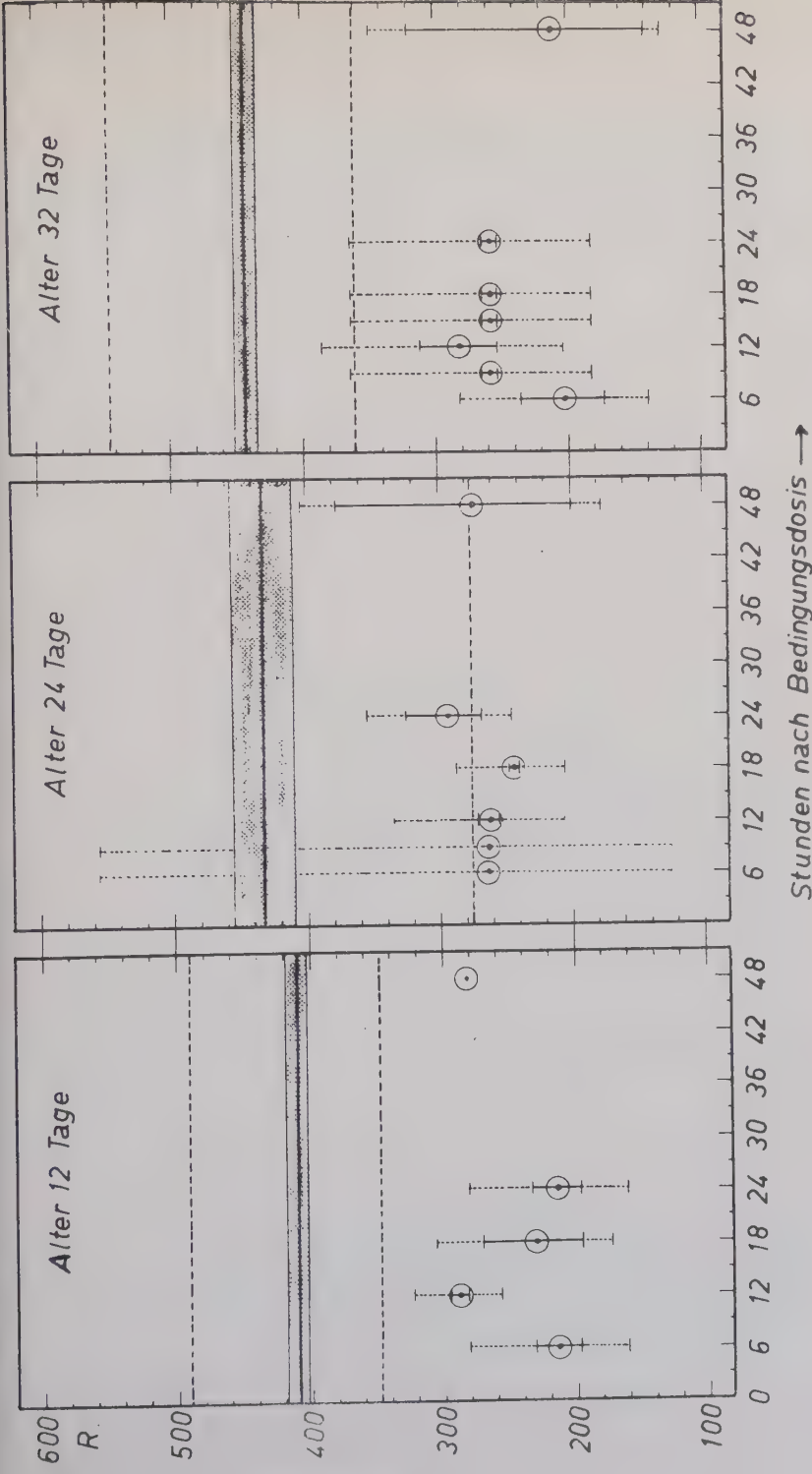
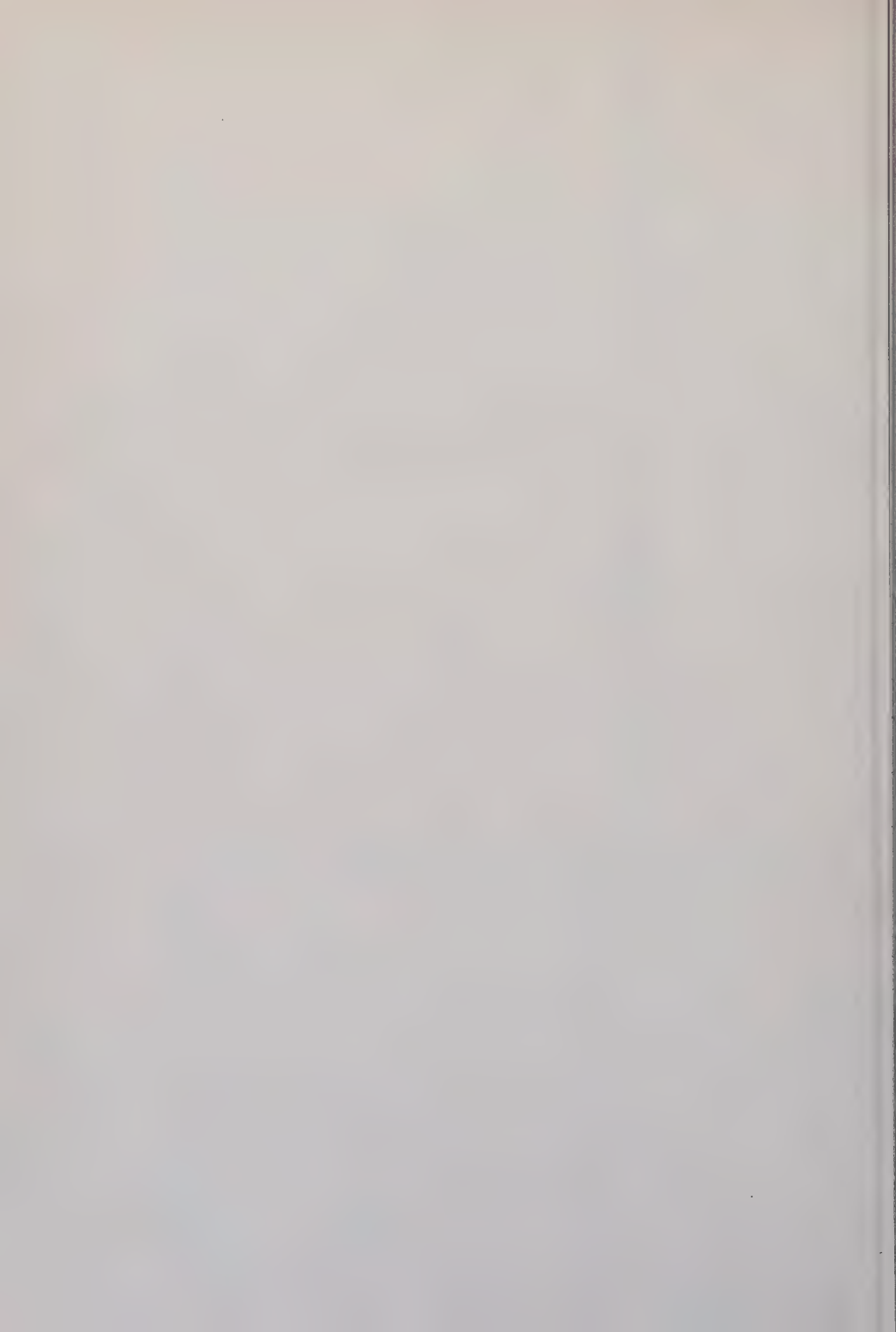


Abb. 11. LD 50(30)-Werte mit Standardabweichungen für röntgenbestrahlte Ratten verschiedenen Alters. Obere Bildhälfte: Tiere nur einmal exponiert; waagrecht LD 50(30) mit s_E (schattiert) und s_d (gestrichelt) Unten: Ratten zweimal exponiert, LD 50(30)-Bestimmung sechs bis 48 Stunden nach Bedingungs-dosis. s_E senkrecht ausgezogen, s_d gestrichelt. s_E = Standardabweichung der mittleren tödlichen Dosis (LD 50), s_d = Standardabweichung der logarithmierten individuellen Wirk-dosen

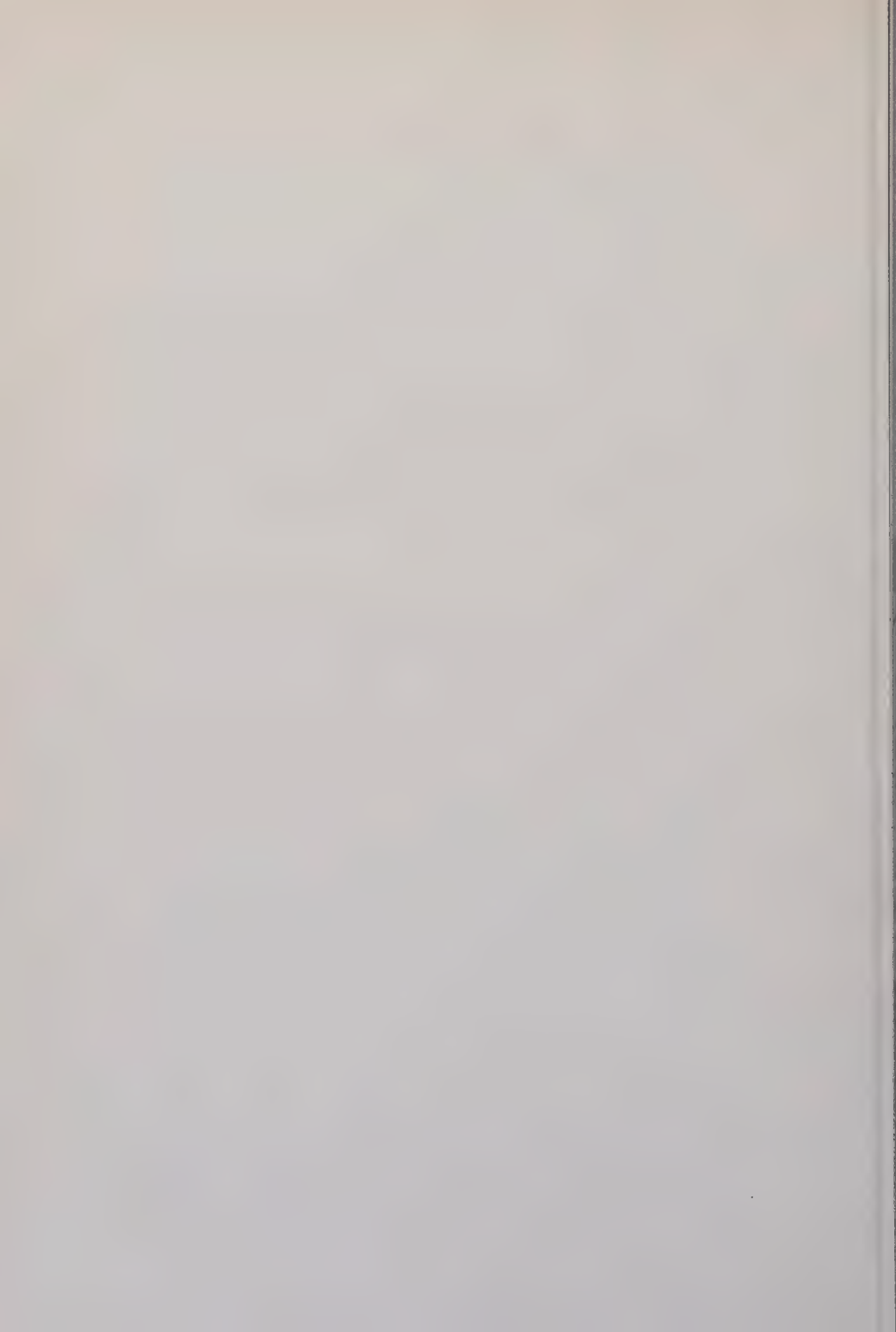


ermittelt. Übereinstimmende Dosis-wirkungs-Beziehungen beobachteten wir für das 9-, 15-, 18- und 24-Stunden-Intervall. Die gefundenen Werte wurden deshalb kombiniert und durch eine gemeinsame Probit-Regressionsgerade wiedergegeben; die LD 50 beträgt für diese Intervalle 258 R. Sechs und zwölf Stunden nach Bedingungs-dosis fanden wir LD 50-werte von 202 bzw. 282 R. Für das 48-Stunden-Intervall erhielten wir Daten, die von der erwarteten Linearität im Probitsystem abwichen. Die errechnete Dosis-Wirkungs-Kurve erscheint deshalb nicht ausreichend gesichert und wurde nicht abgebildet; die Werte sind jedoch in Tabelle 5 (nach S. 19) aufgeführt.

Für alle dargestellten Probit-Regressionsgeraden sind die 95 %-Vertrauensgrenzen eingezeichnet. Diese umschließen eng die Kurve der nur einmal exponierten Ratten und die Geraden der 9, 12, 15, 18 oder 24 Stunden nach Bedingungs-dosis untersuchten Tiere. Die dazugehörigen LD 50-werte scheinen alle signifikant voneinander abzuweichen. Lediglich für das 6-Stunden-Intervall umfassen die Vertrauensgrenzen einen größeren Bereich; die LD 50 mußte außerdem extrapoliert werden. Wir möchten aber auf Grund des großen Abstandes annehmen, daß sie sich dennoch von den übrigen LD 50-Werten signifikant unterscheidet.

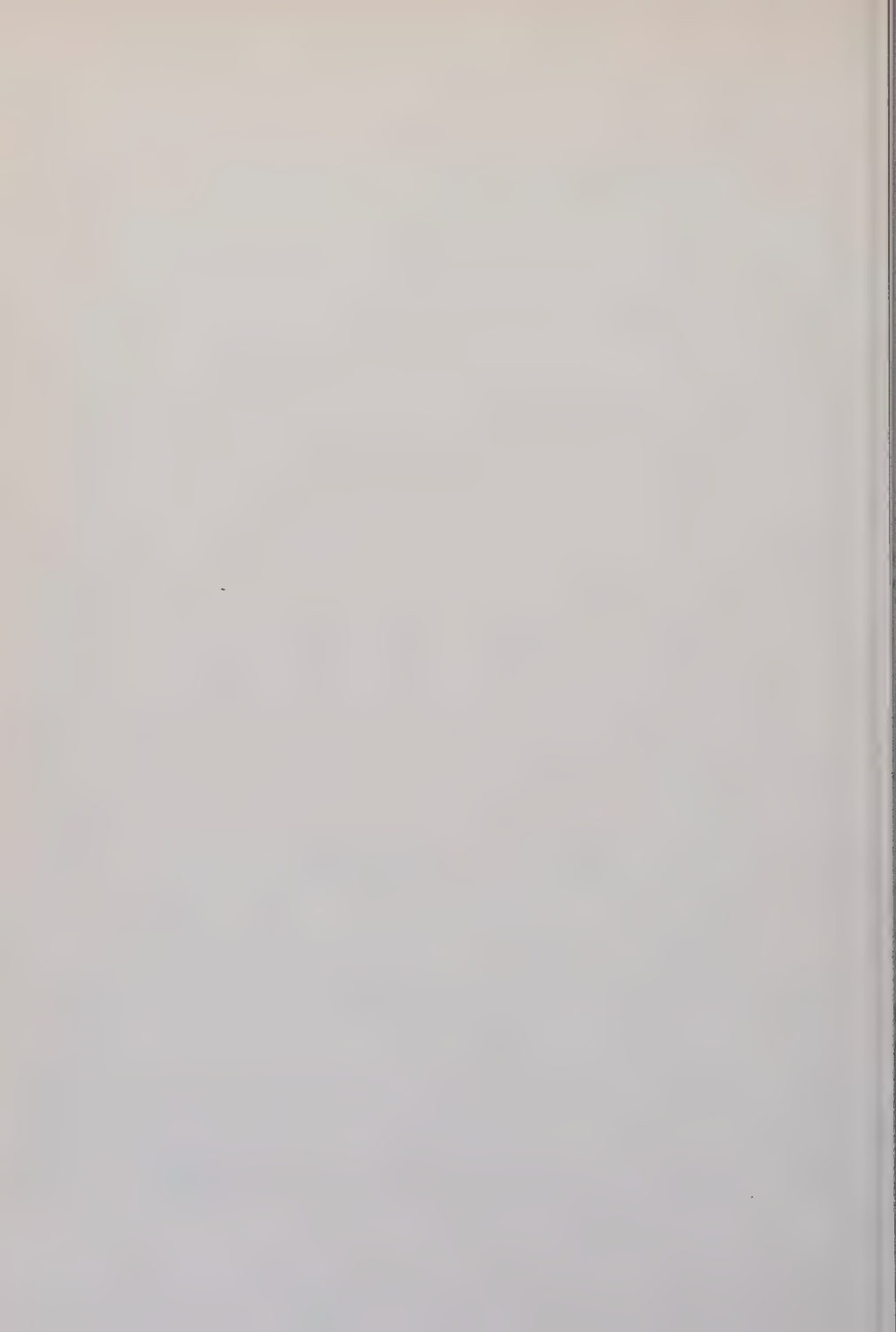
3.4 Restschaden und Erholung

In der Schlußauswertung unserer Experimente stellten wir die Ergebnisse aller Versuchsabschnitte zusammen und berechneten mittels Probitanalyse die LD 50(30)-Werte. Erwartungsgemäß zeigten



Stunden nach D_C	LD 50(30) in R			Restschaden in R			Restschaden in %		
	Tag 12	Tag 24	Tag 32	Tag 12	Tag 24	Tag 32	Tag 12	Tag 24	Tag 32
6	214	264	202	196	167	241	98	84	93
9	-	264	258	-	167	185	-	84	71
12	289	263	282	121	168	161	61	84	62
15	-	-	258	-	-	185	-	-	71
18	230	244	258	180	187	185	90	94	71
24	214	295	258	196	136	185	98	68	71
48	283	275	212	127	156	231	64	78	89
Keine D_C	410	431	443	-	-	-	-	-	-

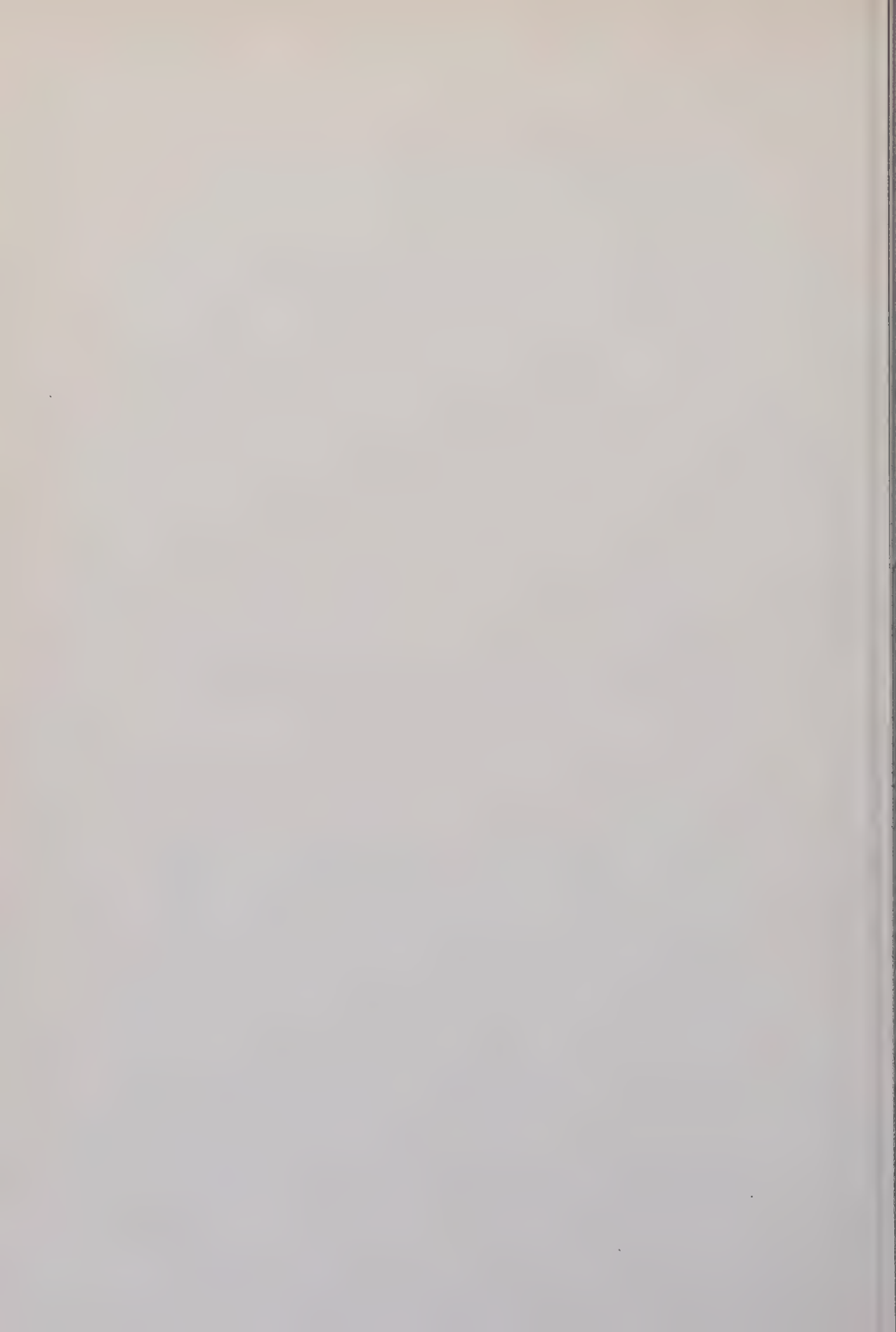
Tabelle 6. LD 50(30)-Werte und Restschaden sechs bis 48 Stunden nach Bedingungs-dosis für 12, 24 und 32 Tage alte Ratten. Der Restschaden in Prozent berechnet sich nach den Formeln $LD 50_R - LD 50_A = J$, $\%J = 100 \cdot J / D_C$.



in allen Altersstufen die nur einmal bestrahlten Tiere höhere LD 50-Werte als die zweimal exponierten. Die LD 50 der vorbelasteten Ratten änderte sich zeitabhängig nach der Bedingungs-dosis. Entsprechend schwankte der Verlauf des Restschadens, der ja durch die Differenz zwischen LD 50_B und LD 50_A gegeben ist (vgl. S. 15). Eine Zusammenstellung der einzelnen LD 50-Werte zeigt Abb. 11 (nach S. 24). In den oberen Bildabschnitten sehen wir die LD 50-Werte einmal exponierter Tiere (Kollektiv B). Die Standardabweichung der mittleren tödlichen Dosis s_E ist schattiert und die Standardabweichung der logarithmierten individuellen Wirkdosen s_d waagrecht gestrichelt angegeben. Die unteren Bildteile zeigen als Funktion der Zeit nach Bedingungs-dosis die LD 50-Werte der vorbestrahlten Ratten (Kollektiv A). Die Standardabweichungen sind durch senkrecht ausgezogene (s_E) oder gestrichelte (s_d) Linien dargestellt.

In der Abbildung läßt sich die Zeitabhängigkeit des Restschadens gut verfolgen. Eine große Differenz zwischen den LD 50-Werten der A- und B-Tiere entspricht einem hohen Restschaden (vgl. S. 15). Um die Schädigung durch eine subletale Ganzbestrahlung innerhalb der drei Altersgruppen vergleichen zu können, berechneten wir den Restschaden in Prozent der Bedingungs-dosis. Tabelle 6 (nach S. 25) enthält diese Werte. Da sich Restschaden und Erholung komplementär verhalten, dürfen wir uns auf die Beschreibung einer Größe beschränken.

Der prozentuale Restschaden ist als Funktion der Zeit nach Bedingungs-dosis in Abb. 12 (nach S. 26)



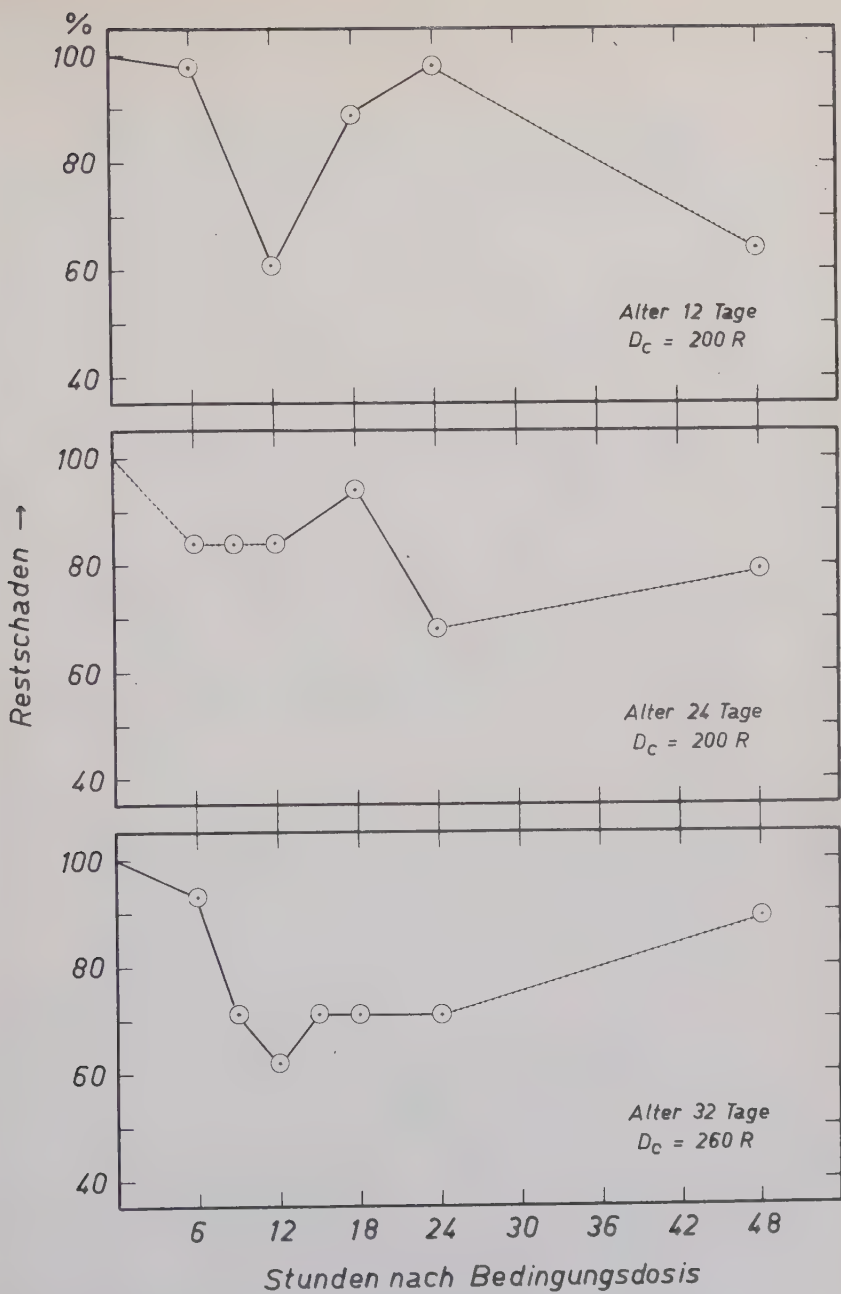
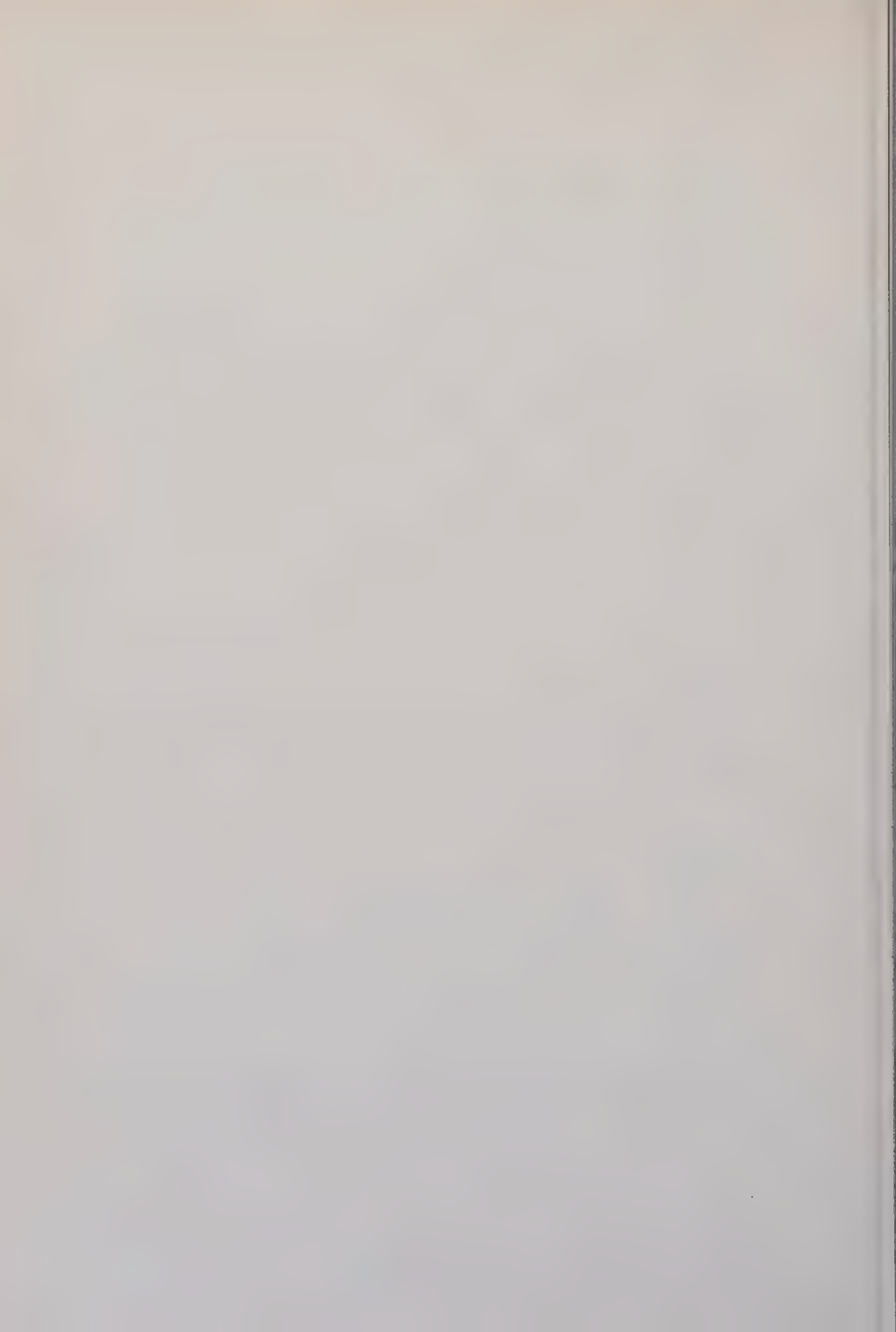


Abb. 12. Restschaden in Prozent sechs bis 48 Stunden nach Bedingungs-dosis für 12, 24 und 32 Tage alte Ratten.



dargestellt für die 12, 24 und 32 Tage alten Ratten. Die Ordinaten zeigen den Restschaden in Prozent der Bedingungs-dosis, die Abszissen die Stunden nach Vorbestrahlung.

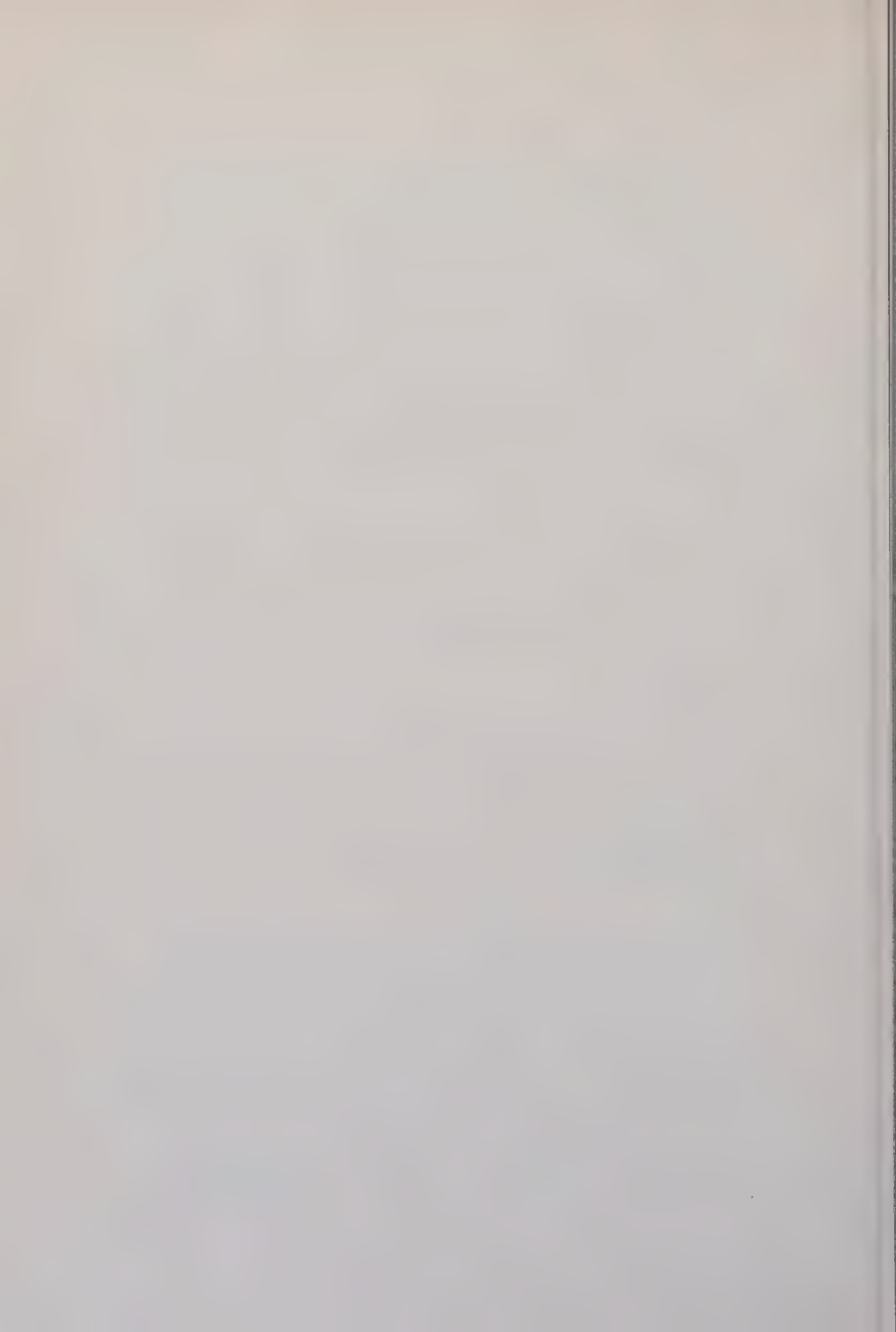
In allen Altersgruppen verkleinert sich der Restschaden während der ersten 12 Stunden nach Bedingungs-dosis mehr oder weniger schnell bis auf ein in jedem Alter verschiedenes Minimum. Die 12 Tage alten Tiere zeigen im Verlauf der nächsten Stunden einen steilen Anstieg des Restschadens auf fast 100 %. Erst 48 Stunden nach der Bedingungs-dosis sinkt er auf 64 %.

Am Tag 24 steigt der Restschaden von 84 % nach 12 Stunden auf 94 % nach 18 Stunden, fällt aber während der nächsten sechs Stunden wieder auf 68 %. Statt einer erwarteten weiteren Abnahme erhöht er sich 48 Stunden nach Bedingungs-dosis auf 78 %.

Bei den 32 Tage alten Tieren folgt dem Minimum eine mäßige Zunahme des Restschadens nach 15 Stunden auf 71 %. Dieser Wert ist 24 Stunden nach Vorbestrahlung unverändert und steigt weitere 24 Stunden später auf 89 % an.

3.5 Auswertung mittels multipler Regressions-analyse

Mit der Berechnung der LD 50(30)-werte sind die Versuchsdaten aber noch nicht ausgeschöpft. Man möchte auch erfahren, ob einzelne Einflußgrößen wie beispielsweise das Geschlecht, Gewichtsunterschiede innerhalb einer Altersklasse, das Alter bei Bestrahlung, die Tageszeit oder der



Zeitabstand zwischen Bedingungs- und Testdosis die Strahlensterblichkeit verändern. Deshalb wurden mit Hilfe eines Computer-Programms multiple Regressionsanalysen* für die Daten der vorbestrahlten Jungtiere (Kollektiv A) und die der nur einmal exponierten Ratten (Kollektiv B) durchgeführt. In dieser Analyse prüfte man die Einwirkung aller Variablen auf die Mortalität. Dabei verwendete man als unabhängiges Merkmal den Anteil der 30 Tage nach Bestrahlung gestorbenen Tiere p , der nach $y = \arcsin \sqrt{p}$ transformiert wurde. Das Gewicht, die Tageszeit und bei den vorbestrahlten Tieren des Kollektivs A - die Zeitintervalle zwischen D_c und D_t fungierten als unabhängige Einflußgrößen. Das Geschlecht faßte man als Klassifizierungsmerkmal auf; dies bot sich an, wenn eine gemeinsame Auswertung des Gesamtmaterials beabsichtigt war.

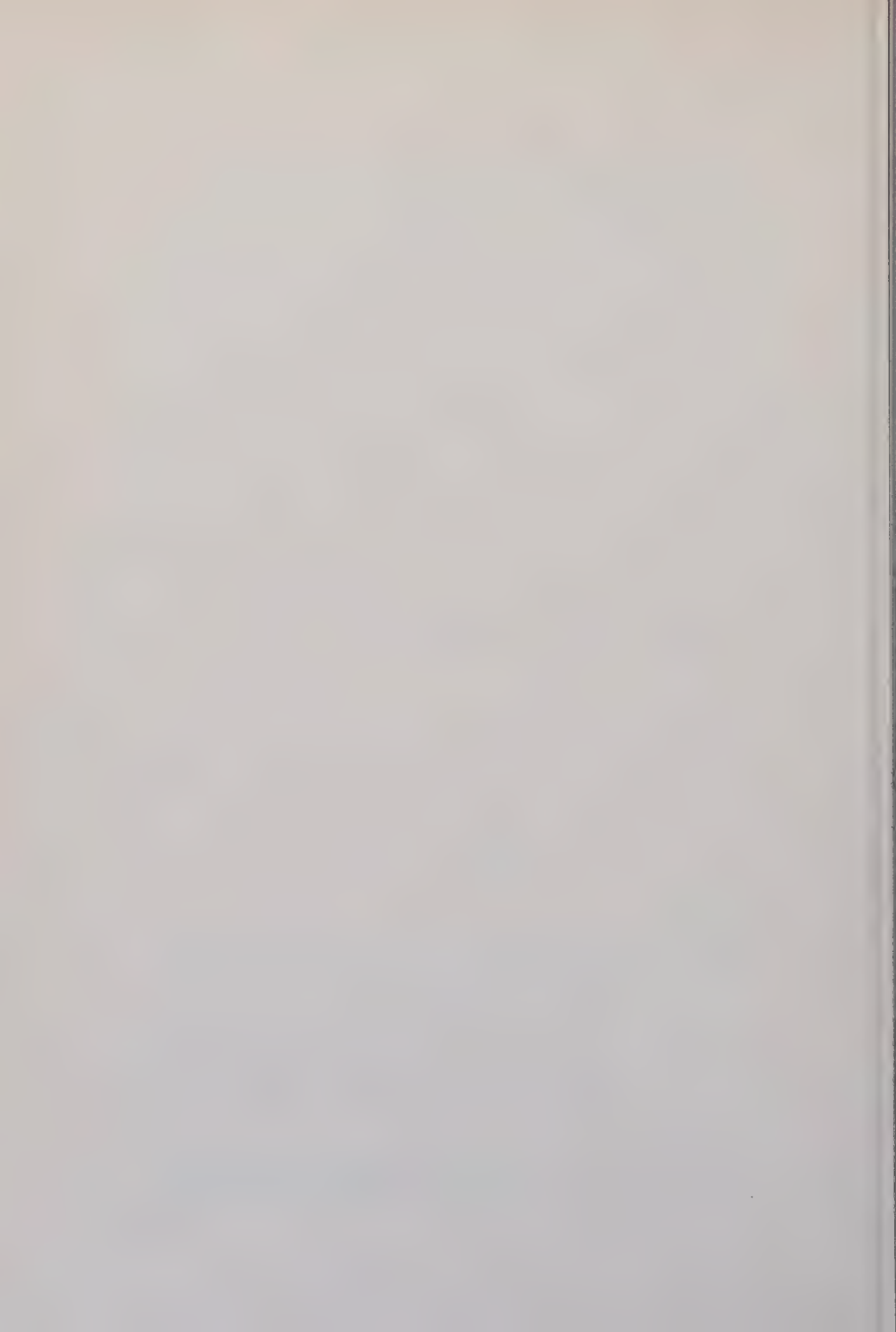
Das Modell lautete:

$$y_{ij} - \bar{y}_{i.} = b_1 \left(x_{ij}^{(1)} - \bar{x}_{i.}^{(1)} \right) + \dots + b_r \left(x_{ij}^{(r)} - \bar{x}_{i.}^{(r)} \right) + \dots + b_k \left(x_{ij}^{(k)} - \bar{x}_{i.}^{(k)} \right)$$

wobei

y_{ij} = transformierter Anteil der gestorbenen Tiere der j-ten Versuchseinheit und des i-ten Geschlechts. Bei den 12 und 24 Tage alten Würfen bestand die Versuchseinheit meist aus fünf Tieren entsprechend der durchschnittlich in jedem Wurf vorhandenen Zahl weiblicher oder männlicher Ratten. Die Versuchseinheiten

* Für die Durchführung dieser Analysen danken wir Herrn Dr. H. J. Jesdinsky, Institut für medizinische Statistik und Dokumentation, Freiburg/Brsg.



Multiple Regressionsanalyse

(Computer Siemens 2002)

Mortalität einmal im Alter von 12, 24 oder 32 Tagen bestrahlter Ratten

Alter	Tierzahl n	Einfluß auf Mortalität			
		Dosis log ₁₀ R	Gewicht	Tageszeit lin. quadr.	
12 Tage	550	393.1***	- 1.010	29.88**	- 3.702
24 Tage	734	124.6***	- 0.893***	- 5.069	1.365
32 Tage	353	263.0***	- 0.479	- 3.034	1.636
Geschlechtsunterschied nicht signifikant					

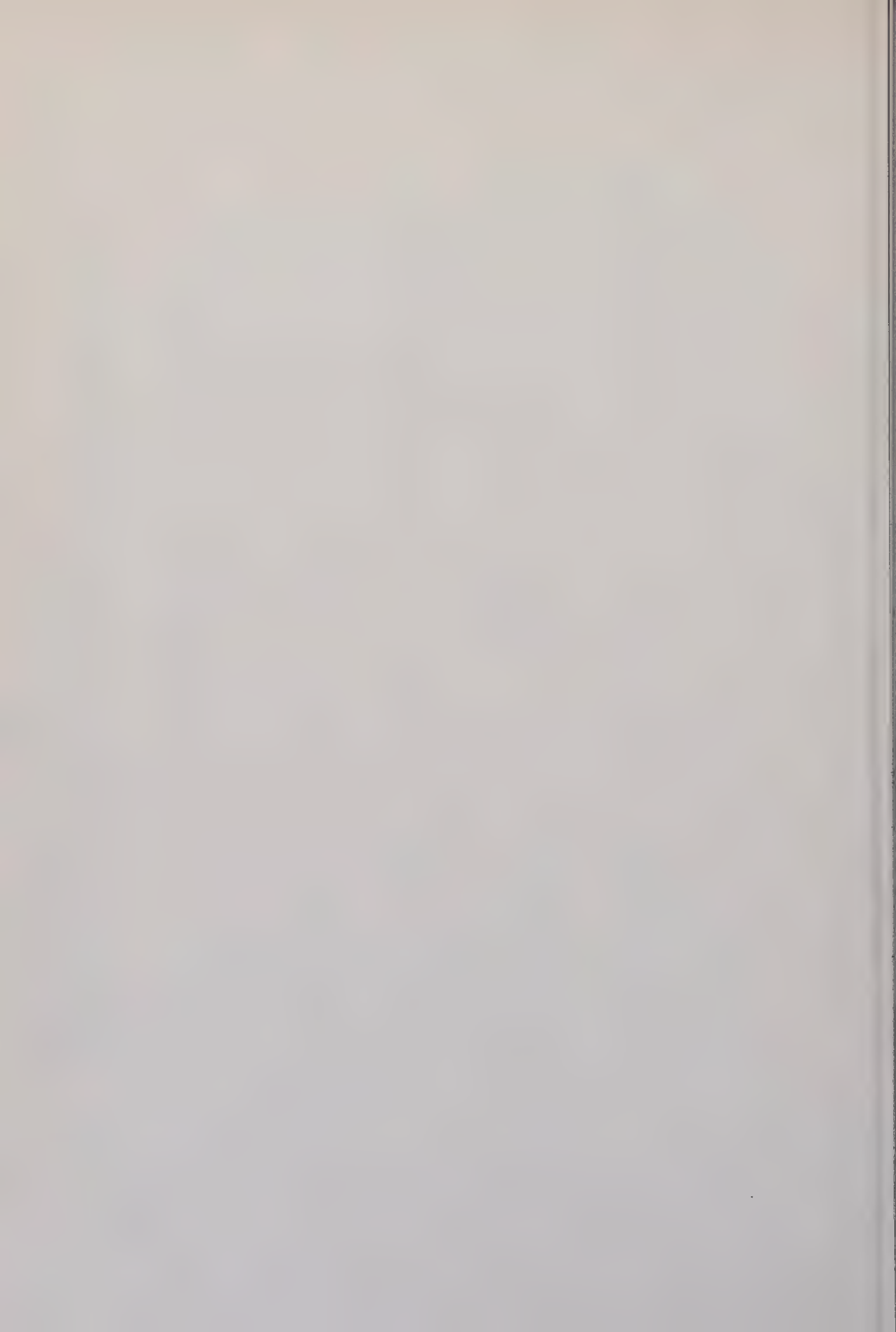
Tabelle 7. Einfluß verschiedener Merkmale auf die Mortalität einmal bestrahlter Ratten mehrerer Altersstufen. Die Mortalität wurde nach $y = \arcsin \sqrt{p}$ transformiert; die angegebenen Zahlen sind partielle Regressionskoeffizienten.

Signifikant gegen Null: *

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$



mit 32 Tagen Alter, in denen die Merkmale von je 10 männlichen oder weiblichen Tieren dokumentiert waren, wurden doppelt eingegeben.

$\bar{y}_i$ = Mittelwert für das i-te Geschlecht

$x_{ij}^{(1)}$ = Wert des ersten unabhängigen Merkmals der j-ten Versuchseinheit im i-ten Geschlecht

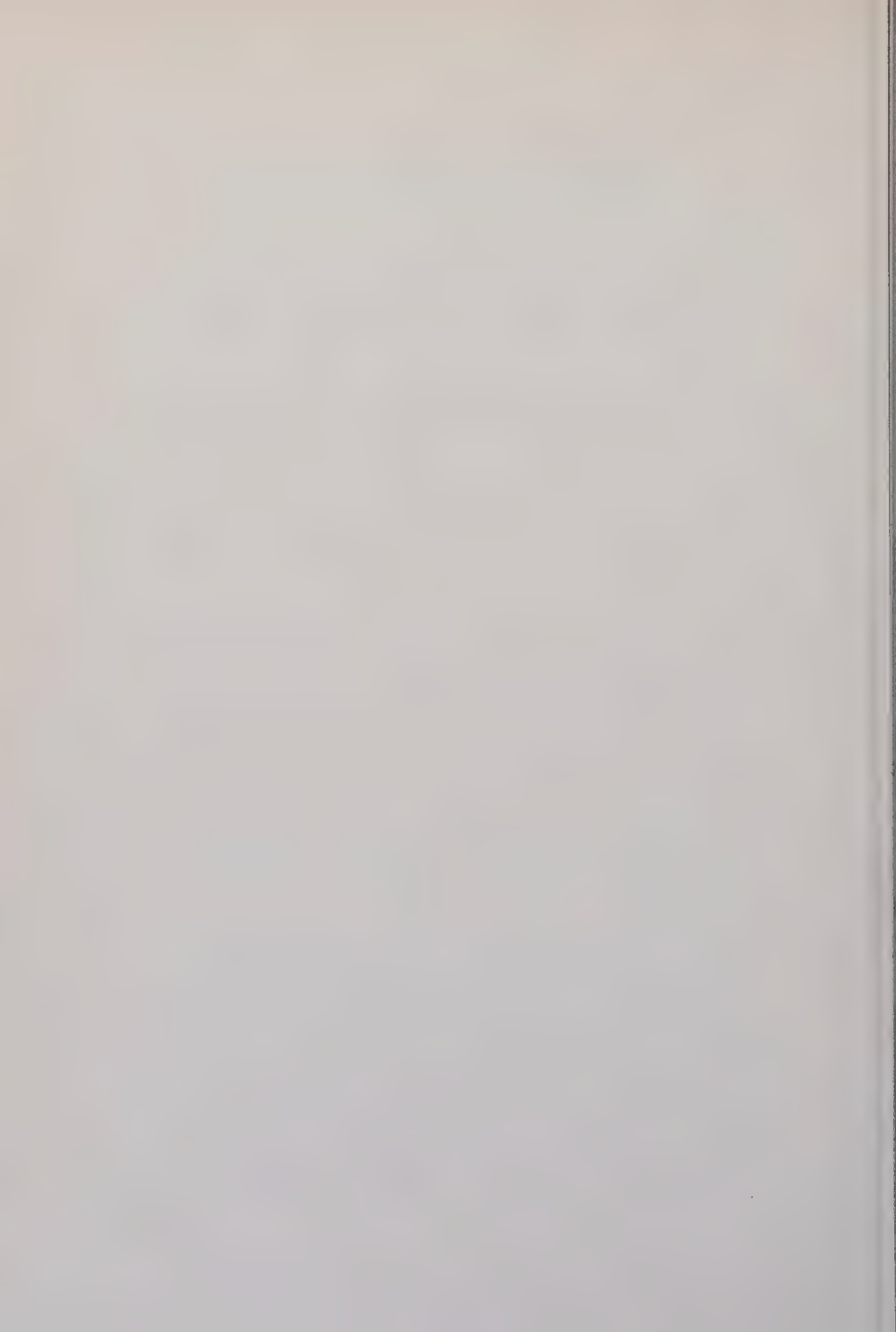
b_1 = partieller Regressionskoeffizient für das erste unabhängige Merkmal

$x_{ij}^{(2)}$, $\bar{x}_i^{(2)}$, b_2 usw. entsprechend

Als $x_{ij}^{(\gamma)}$ wurden z. T. auch Potenzen eines Merkmalswertes aufgefaßt.

Die Ergebnisse für die einmal bestrahlten Tiere (Kollektiv B) sind in Tabelle 7 (nach S. 28) zusammengefaßt. Die aufgeführten Zahlen entsprechen den partiellen Regressionskoeffizienten, die sich etwa mit der Steigung der Regressionsgeraden aus der Probitanalyse vergleichen lassen. Eingetragene Sterne kennzeichnen den Grad der Signifikanz; ein, zwei oder drei Sterne gehören zu den Anteilswerten $P < 0,05$, $P < 0,01$ bzw. $P < 0,001$.

Im einzelnen sehen wir erwartungsgemäß in allen drei Altersstufen einen hoch signifikanten ($P < 0,001$) Zusammenhang zwischen Bestrahlungsdosis und Mortalität. Die Beziehung zwischen Körpergewicht und Sterblichkeit erwies sich nur einmal im Alter von 24 Tagen als signifikant ($P < 0,001$). Ein signifikanter Zusammenhang von Geschlecht und Mortalität fand sich in keinem Fall; die zur Probitanalyse durchgeführte



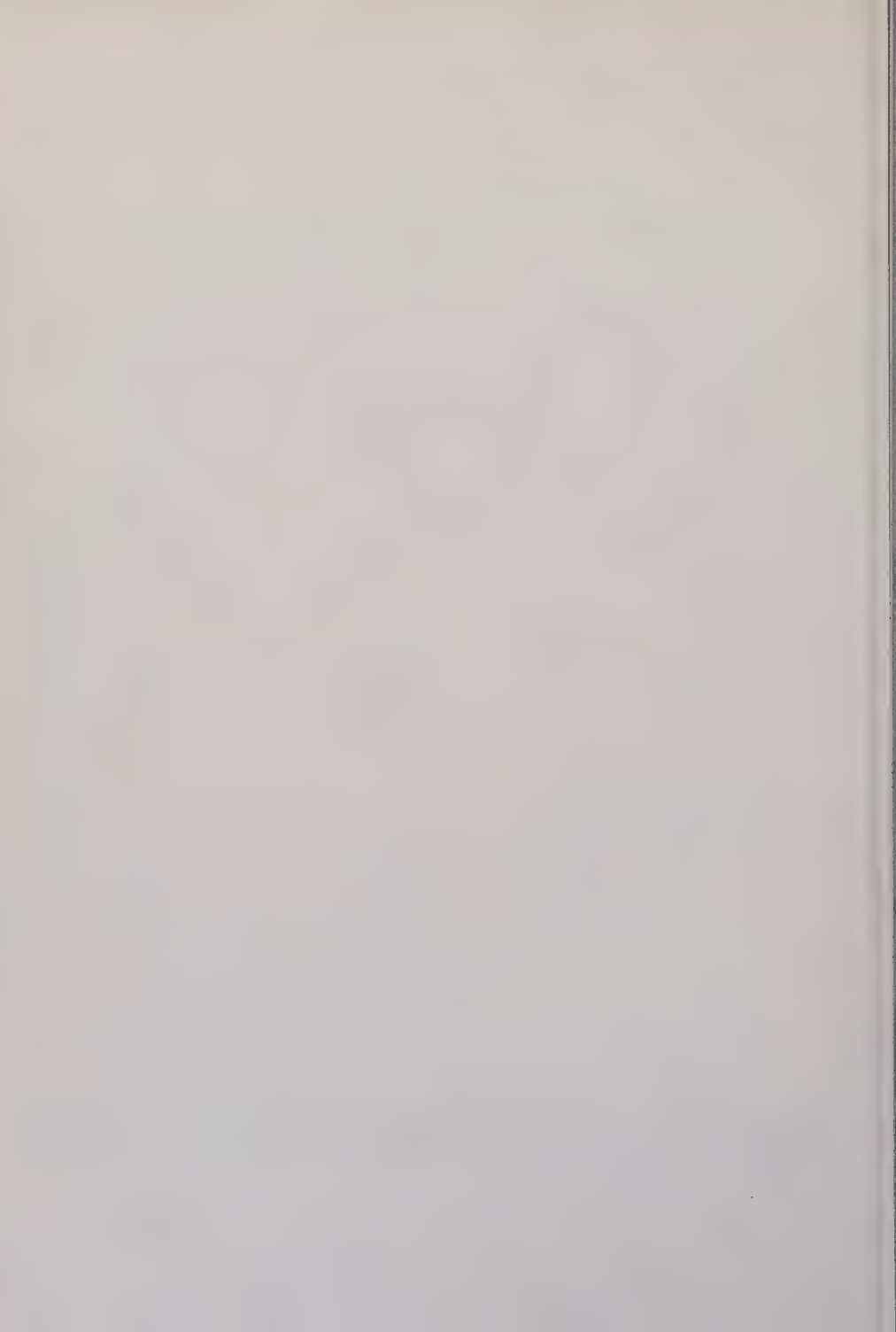
Multiple Regressionsanalyse (Computer Siemens 2002)

Mortalität zweimal bestrahlter Ratten

$n = 2593$

Einfluß auf Mortalität	Partieller Regressionskoeffizient	Signifikanz	
Dosis ($\log_{10} R$)	167.7	$P < 0.001$	Ja
Alter	- 0.241	$P > 0.05$	Nein
Gewicht	- 0.177	$P > 0.05$	Nein
Tageszeit, lin.	- 0.433	$P > 0.05$	Nein
quadr.	0.284	$P > 0.05$	Nein
Stunden zwischen D_c und D_t , lin.	- 3.37	$P < 0.01$	Ja
quadr.	0.159	$P < 0.01$	Ja
kub.	0.0021	$P < 0.01$	Ja

Tabelle 8. Einfluß verschiedener Merkmale auf die Mortalität der mit Bedingungs-dosis vorbestrahlten Ratten. Alle Altersstufen wurden kombiniert, die Mortalität nach $y = \arcsin \sqrt{p}$ transformiert.

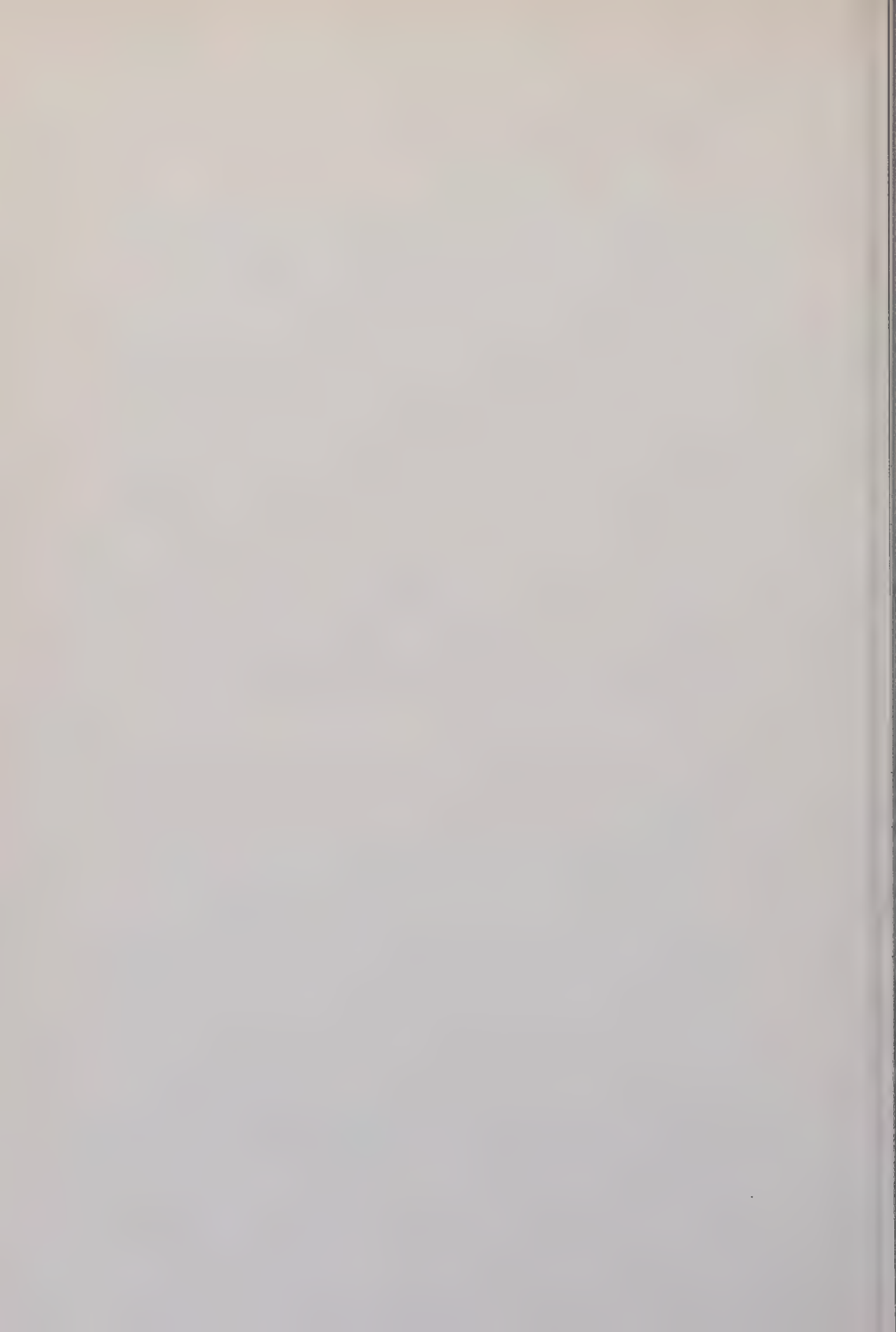


Kombination der empirischen Daten beider Geschlechter erscheint daher gerechtfertigt.

Mit einem linearen und quadratischen Glied wurde in der Regressionsanalyse eine mögliche Beziehung zwischen den Tageszeiten 6 bis 8 Uhr, 12 bis 18 Uhr, 20 bis 23 Uhr oder 0 bis 2 Uhr und der Mortalität berücksichtigt. Das war erforderlich, weil wir unsere Ratten zu verschiedenen Tageszeiten bestrahlen mußten. Da die Ratten nachts eine ergotrope und tags eine trophotrope Stoffwechsellage haben, könnte durchaus die Strahlenempfindlichkeit und damit die Sterblichkeit vom Tag-Nacht-Rhythmus beeinflußt werden. Eine fluktuierende Erholung wäre dann vielleicht nur auf tageszeitabhängige Änderungen der Strahlenempfindlichkeit zurückzuführen. In der Regressionsanalyse fand sich aber nur einmal ein signifikanter Zusammenhang mit der Mortalität ($P < 0,01$).

An den vorbestrahlten Ratten ist zusätzlich das Verhältnis zwischen den Zeitabständen nach Bestrahlungsdosis und der Mortalität zu untersuchen. In der Regressionsanalyse wurde es mit einem linearen, quadratischen und kubischen Glied berücksichtigt. Tabelle 8 (nach S. 29) enthält die Ergebnisse. Alter, Gewicht und Tageszeit zeigen keine signifikante Beziehung zur Sterblichkeit, wohl aber erwartungsgemäß die Bestrahlungsdosis ($P < 0,001$). Hoch signifikant ($P < 0,001$) in allen Altersgruppen erweist sich der Zusammenhang zwischen den linearen, quadratischen bzw. kubischen Gliedern der Zeitintervalle und der Mortalität.

Die Mortalität als Funktion der Zeit nach Be-

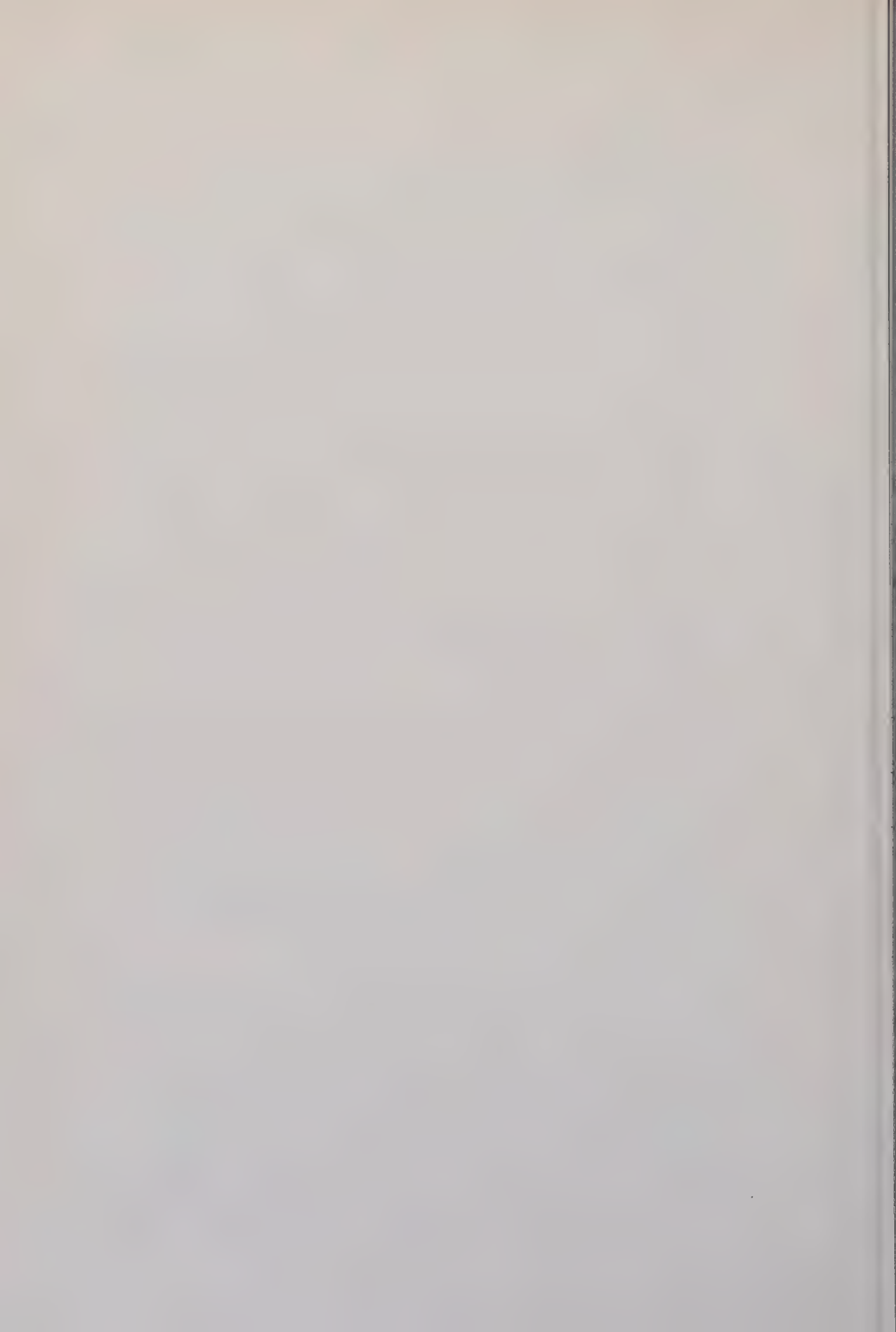


dingungsdosis sehen wir in Abb. 13 (nach S.31), dargestellt durch ein bestapproximierendes Polynom dritten Grades. Die mit einem Polynom fünften Grades versuchte Anpassung lieferte keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen den Zeitabständen. Daraus möchten wir schließen, daß in der Mortalitäts-Zeit-Funktion des vorliegenden Gesamtmaterials lediglich zwei Extremwerte, ein Minimum und ein Maximum, auftreten.

In einem nächsten Schritt paßte man den empirischen Werten jeder Altersgruppe getrennt ein Polynom dritten Grades an, um Aufschluß zu bekommen über eine vielleicht vorhandene Wechselwirkung zwischen Alter und Bestrahlungsintervall, die im Modell nicht enthalten ist. Abbildung 14 (nach S. 32) veranschaulicht die Ergebnisse; zum Vergleich wurde auch der Restschaden eingezeichnet.

Die zwölf Tage alten Ratten zeigen die niedrigste Sterblichkeit 14 Stunden, die höchste 35 Stunden nach Bedingungs-dosis; am Tage 32 finden wir diese Extremwerte 15 bzw. 37 Stunden nach Vorbestrahlung. Im Alter von 24 Tagen scheinen die Ratten vom Verhalten der 12 und 32 Tage alten abzuweichen: Hier erreicht die Mortalität den Höchstwert schon 12 Stunden und den Minimalwert 38 Stunden nach der Vorbestrahlung.

Die Auswertung mittels multipler Regressionsanalyse lieferte also folgendes Ergebnis: Die Beziehung zwischen dem Geschlecht, Gewicht oder der Tageszeit und der Strahlensterblichkeit erwies sich nicht als signifikant. Dagegen beobachtete man in allen Altersgruppen einen sogar hoch signifikanten Zusammenhang zwischen den einzelnen Zeitabständen nach Bedingungs-dosis



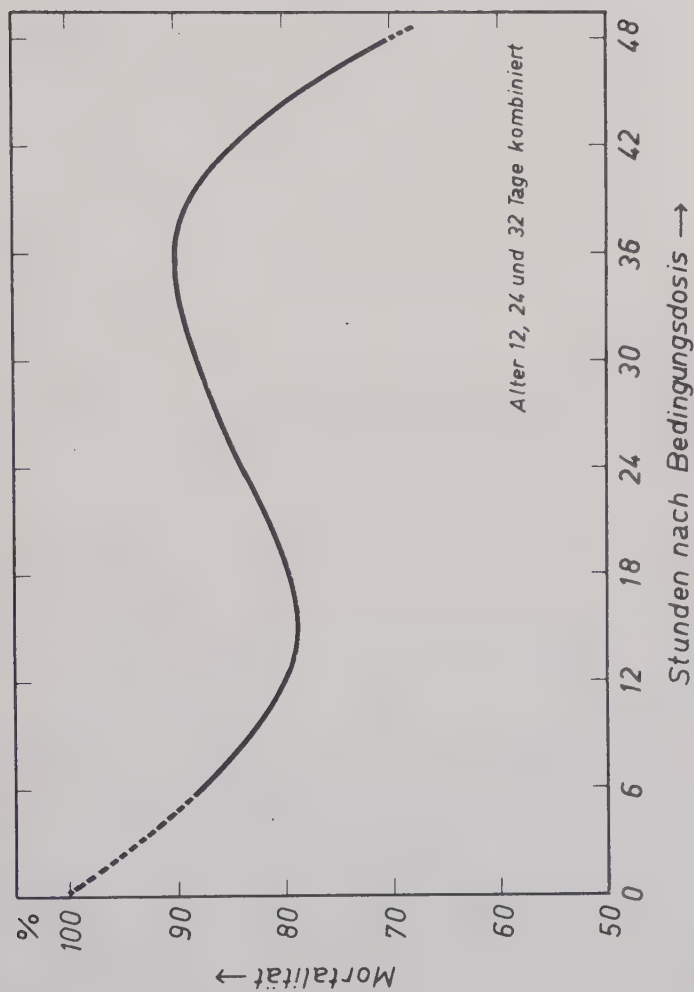
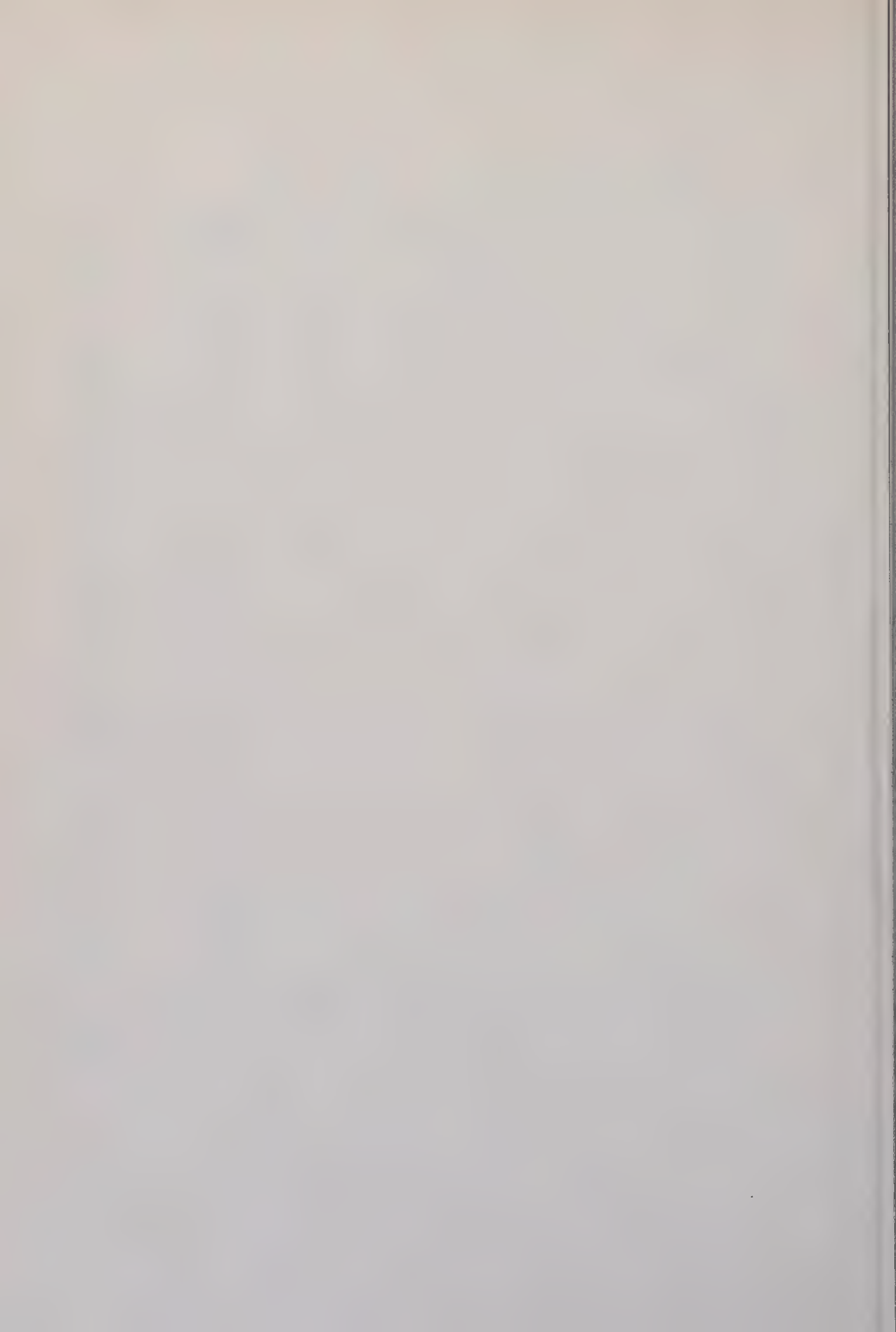
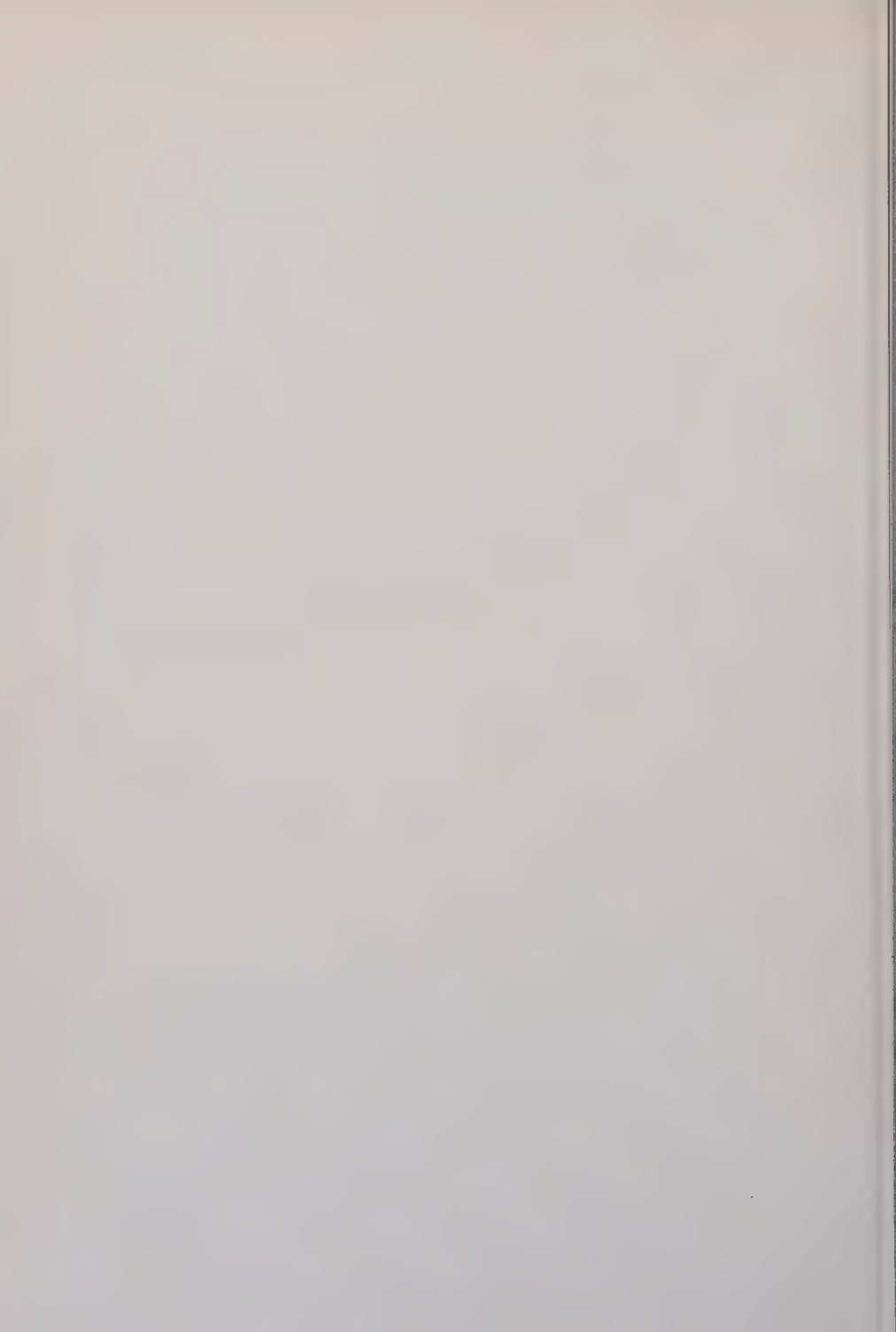


Abb. 13. Bestapproximierendes Polynom dritten Grades für die Beziehung zwischen Mortalität und Zeit nach Bedingungs-dosis. Die Daten der drei Altersgruppen 12, 24 und 32 Tage wurden kombiniert.



und der Mortalität. Den empirischen Punkten läßt sich ein bestapproximierendes Polynom dritten Grades anpassen. Die Mortalitäts-Zeit-Funktion bestätigt qualitativ den zeitlichen Verlauf des Restschadens in den Altersklassen 12, 32 und vielleicht auch 24 Tagen.



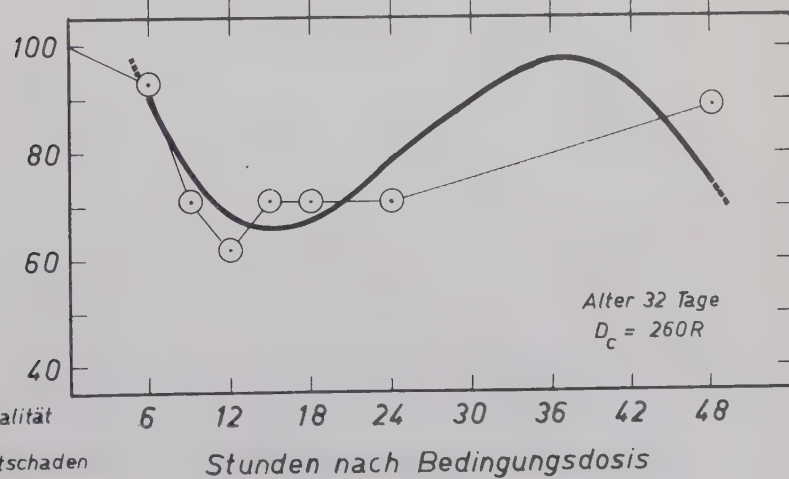
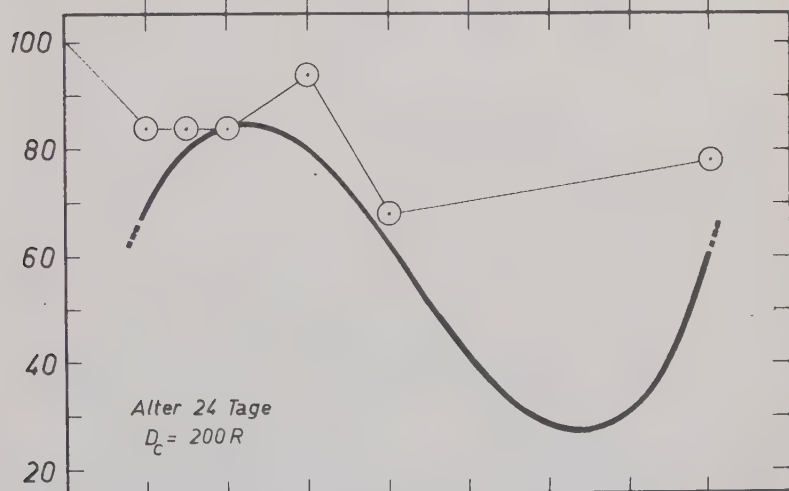
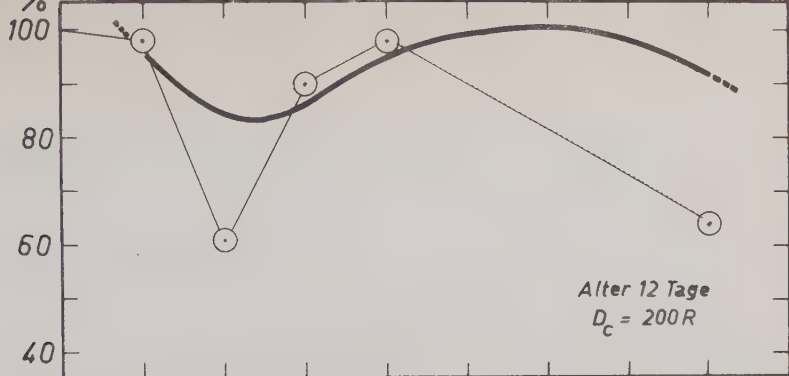
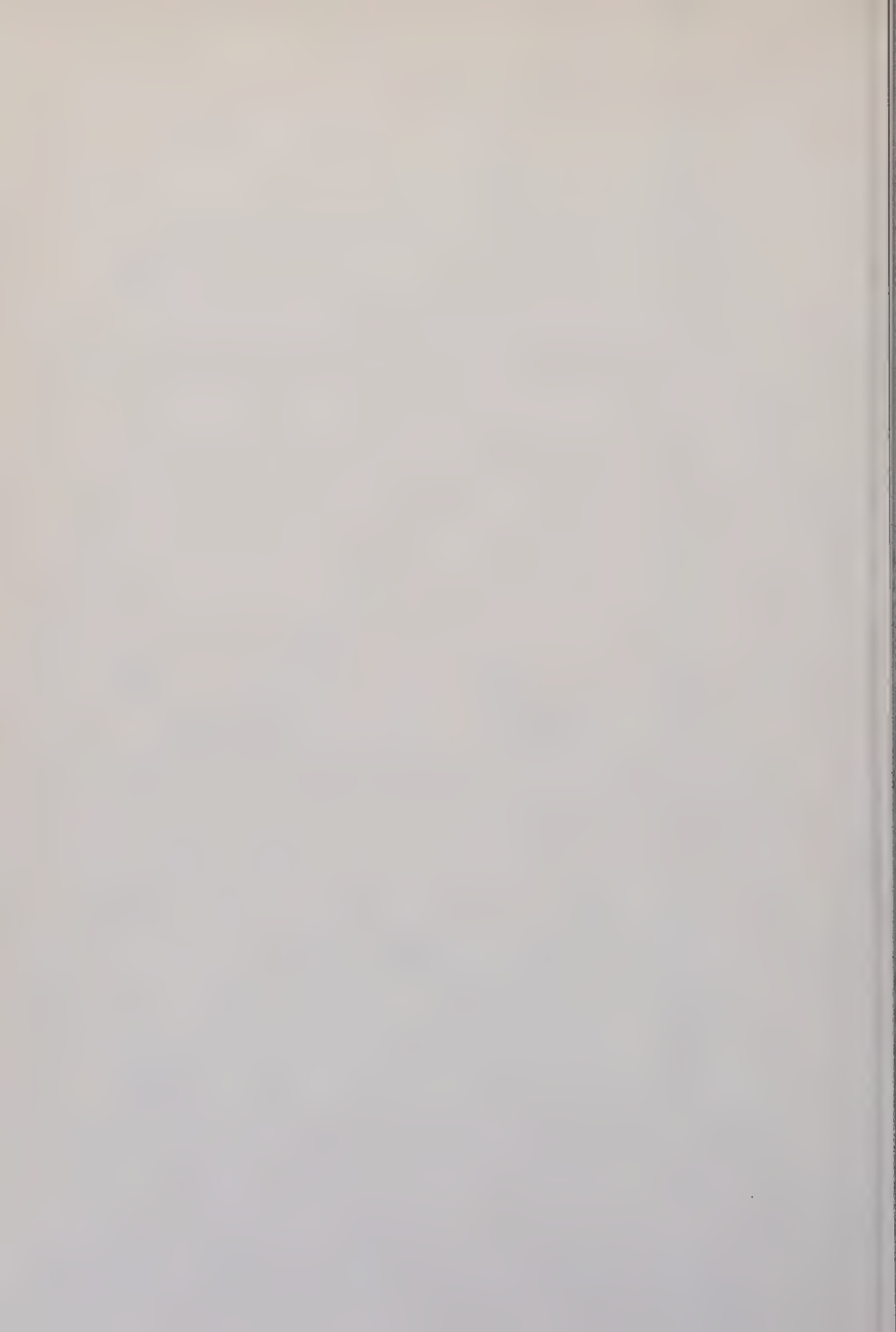


Abb. 14. Bestapproximierende Polynome dritten Grades für die Beziehung zwischen Mortalität und Zeit nach Bedingungs-dosis. Getrennte Berechnung für jede Altersgruppe. Zum Vergleich wurde der Restschadensverlauf eingezeichnet.

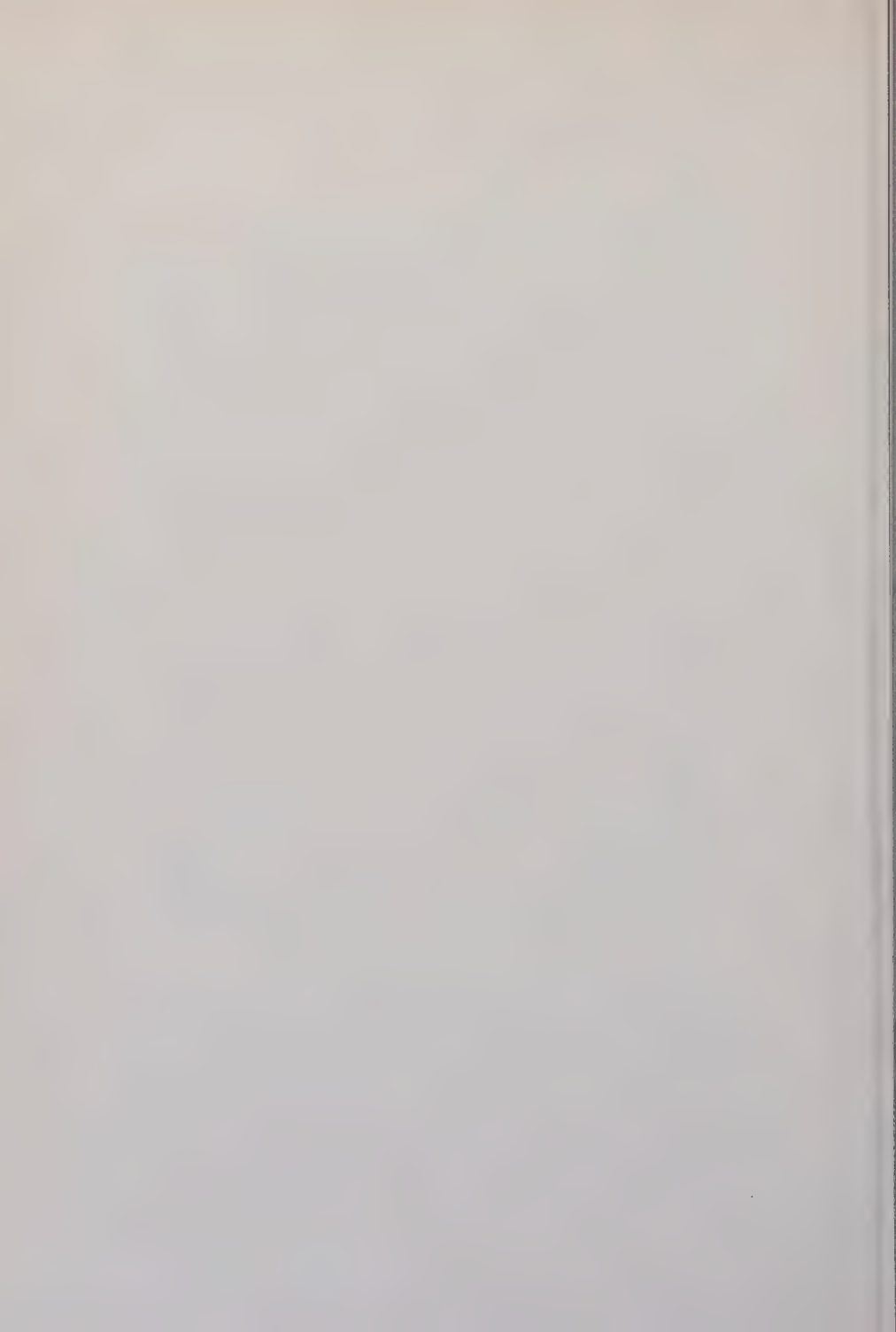


4.0. Diskussion

4.1 Versuchstiere

Im vorliegenden split-Dosis-Experiment verwendeten wir statt der von anderen Autoren benutzten erwachsenen Mäuse erstmals junge Ratten. Sie waren bei Bestrahlung 12, 24 oder 32 Tage alt. Diese Altersstufen wurden nicht zufällig gewählt. Hinsichtlich der Strahlensensibilität zeigen die drei Altersklassen ein charakteristisches Verhalten. Bis zum Alter von 12 Tagen steigt die LD 50(30) deutlich an, ändert sich dann aber nicht wesentlich bis zum 24. Lebens- tag. Erst danach nimmt die LD 50 erneut zu. Aber auch die Entwicklung der Ratten hat im Alter zwischen 12 und 32 Tagen einige Besonderheiten. Ungefähr 15 Tage nach der Geburt endet die extrauterine Foetalzeit, daran erkennbar, daß die jungen Ratten ihr Fell bekommen haben und die Augen öffnen. Die physiologische Eisenmangelanämie der Jungtiere, bedingt durch den relativen Eisenmangel der Muttermilch, erreicht am Tag 24 bei unseren Tieren einen Höhepunkt (REINCKE 1962). Im Alter von 32 Tagen sind die Ratten gerade vom Muttertier entwöhnt.

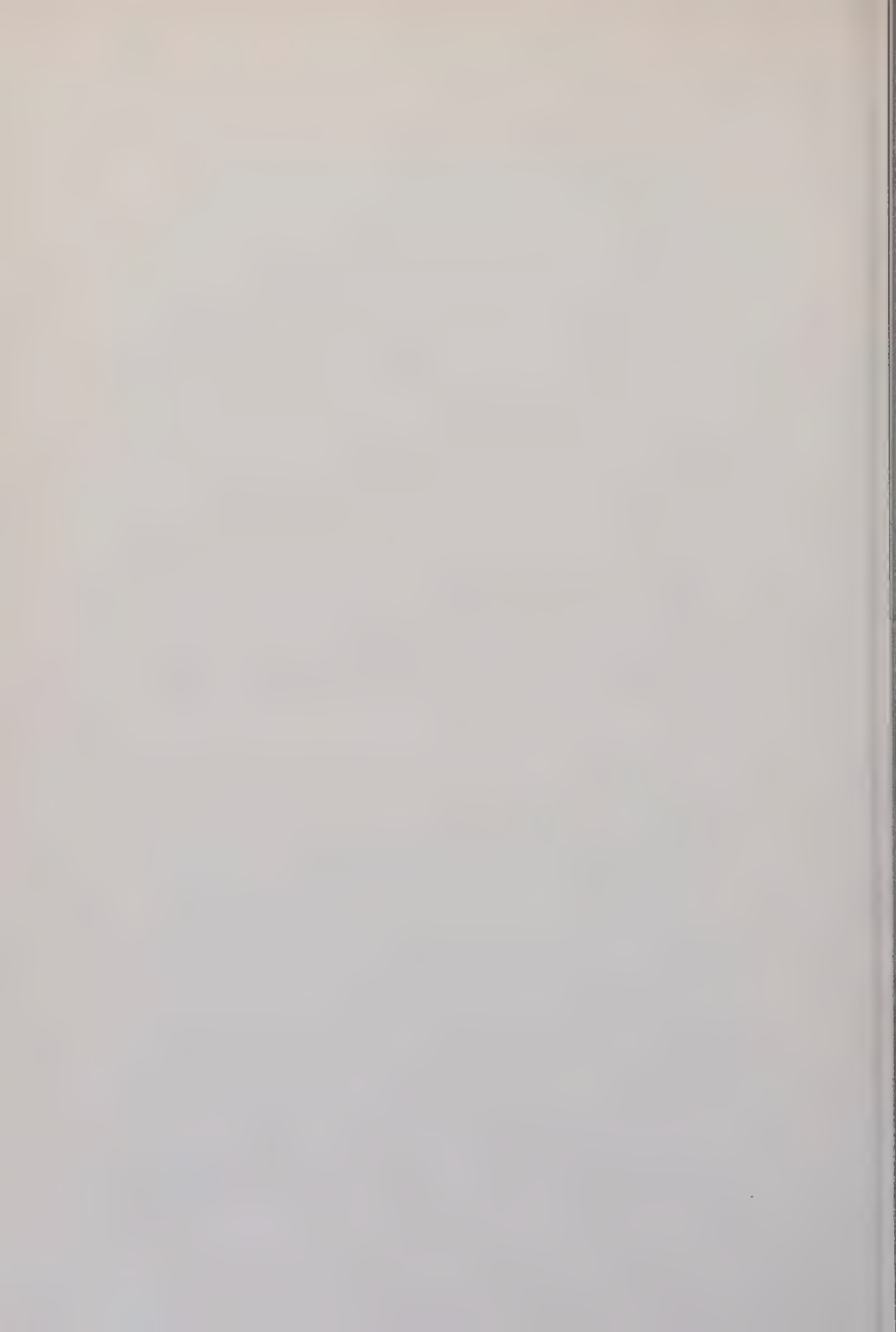
Der Versuch mit jungen Ratten stieß auf Schwierigkeiten, die bei erwachsenen Tieren nicht beachtet werden müssen. In den beiden jüngeren Altersgruppen hatten wir geschlossene Würfe zu bestrahlen. Die Entwicklung der Jungtiere vor und nach der Exposition hängt wesentlich von der Mutter ab. Es gibt gute und weniger gute Muttertiere und dementsprechend Würfe mit



kräftigeren oder schwächeren Tieren. Auch konnten naturgemäß nicht alle Würfe gleich groß sein. Zwar hatten wir eine untere Grenze von sieben Tieren, aber keine obere, so daß ein Wurf oft aus 10 bis 13 Katten bestand. Hinsichtlich der Ernährung waren kleinere Würfe besser gestellt als größere und hatten günstigere Aussichten, eine Bestrahlung 30 Tage lang zu überleben. Schließlich muß auch bedacht werden, daß jeder Wurf aus weiblichen und männlichen Tieren besteht.

Die Reaktion des einzelnen Tieres wird also weitgehend von den Gegebenheiten innerhalb seiner Lebensgemeinschaft beeinflusst und läßt sich nicht vom Verhalten der Wurfgeschwister trennen. Infolge des sogenannten Wurffaktors, der alle beschriebenen Einflußmöglichkeiten zusammenfaßt, darf man hier nur den ganzen Wurf, nicht aber das einzelne Jungtier als stochastisch unabhängige Einheit betrachten.

Die Zahl der Versuchseinheiten kann nicht beliebig klein sein. In den verwendeten Altersstufen hatten wir immer eine jahreszeitabhängige "Spontanmortalität" zu berücksichtigen, die wir an unbestrahlten Tieren (Kollektiv C) kontrollierten (Tabelle 3, nach S. 15). Die Anzahl der exponierten Versuchseinheiten mußte so bemessen werden, daß der durch Spontansterblichkeit bedingte Ausfall das Experiment nicht gefährden konnte. Eine weitere Fehlerquelle bestand im "Wurffaktor", der die Strahlenmortalität für eine bestimmte Dosis bedenklich verfälschen kann. In ungünstigen Fällen mußten wir sogar damit rechnen, daß sich die Einflüsse von Spontanmortalität und Wurffaktor gleichsinnig auswirkten

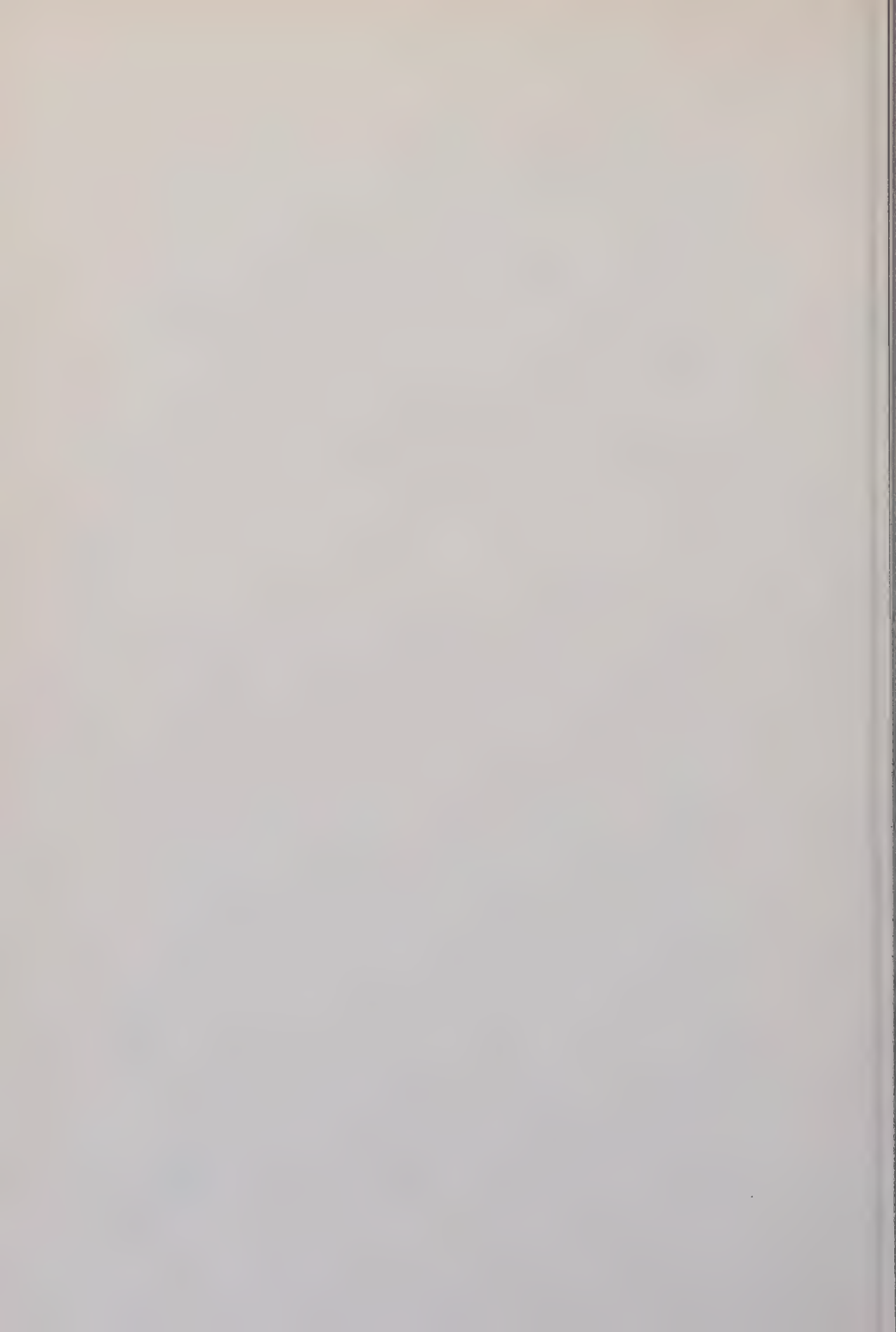


und dann zum Aussterben oder auch zum Überleben ganzer Würfe führen konnten. Deshalb lag die minimal notwendige Zahl der Versuchseinheiten für eine ungefährdete Durchführung des Experiments in den jüngeren Altersgruppen ziemlich hoch. Etwas günstigere Verhältnisse bieten sich bei den 32 Tage alten Katten, die wir randomisieren konnten, weil sie vom Muttertier entwöhnt waren.

Wegen des unverhältnismäßig großen Aufwandes mußten wir deshalb auf eine Wiederholung des Experimentes verzichten, obwohl deren Bedeutung und Vorteile bekannt sind.

4.2 Probitanalyse

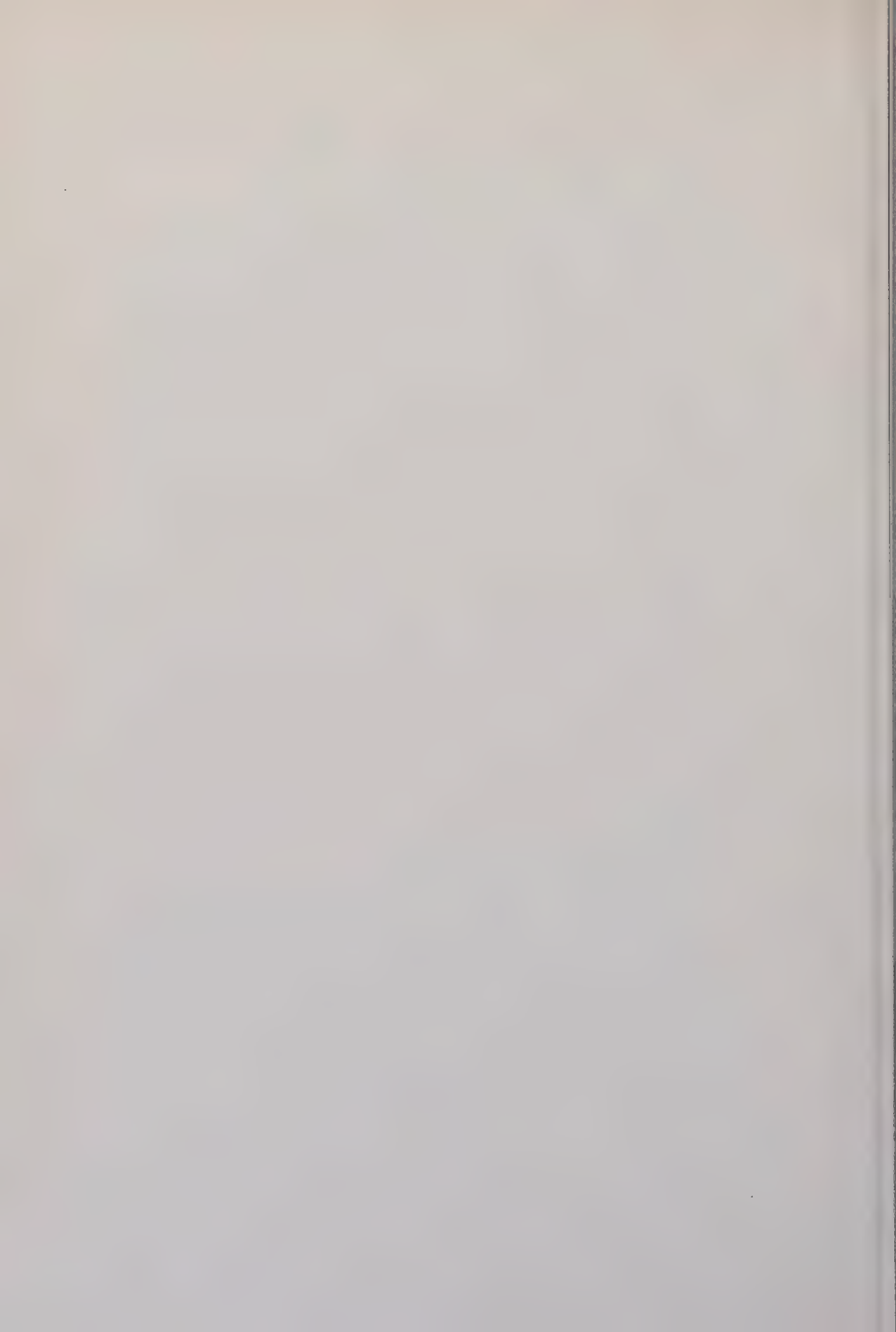
Als Maß der Strahlenempfindlichkeit benutzten wir die LD 50(30), die wir mit drei oder vier abgestuften Testdosen bestimmten. Unter Berücksichtigung der Spontanmortalität (Tabelle 3, nach S. 15) berechneten wir mittels Probitanalyse aus den empirischen Daten (Tabelle 4a-c, nach S. 16) Probit-Regressionsgeraden mit ihren 95 %-Vertrauensgrenzen. Da diese Geraden nicht parallel verlaufen, sondern signifikant verschiedene Steigungen aufweisen, lassen sich die Unterschiede zwischen den einzelnen LD 50-Werten nicht statistisch prüfen. Infolge des nicht parallelen Verlaufs können Überschneidungen vorkommen, die zu eigenartigen Dosis-Wirkungs-Beziehungen führen: Im Schnittpunkt zweier Regressionsgeraden sind beispielsweise die zur Erzeugung einer bestimmten Mortalität erforderlichen Dosen identisch; jedoch wird auf der steileren Regressionsgeraden eine LD 20 wesent-



lich größer, eine LD 80 aber dagegen wesentlich kleiner als auf der flacheren Kurve.

Nach jedem Zyklus der Probitanalyse führten wir mittels χ^2 -Test eine Anpassungsprüfung durch. Ein signifikantes χ^2 bedeutet, daß die Anpassung der berechneten Probitgeraden an die beobachteten Prozentpunkte nicht als ausreichend betrachtet werden kann. Dafür sind mehrere Ursachen denkbar. Erstens: die Gerade zeigt noch keinen bestmöglichen Fit zu den Punkten. Ein weiterer Zyklus muß deshalb gerechnet werden. Zweitens: die Punkte lassen sich durch eine Gerade nicht ausreichend repräsentieren, weil sie eine andere Funktion erfüllen. Dann sind die Voraussetzungen für eine Probitanalyse nicht gegeben. Drittens: die Punkte lassen sich durch eine Gerade repräsentieren, liegen aber weit verstreut. In diesen Fällen läßt sich auch durch mehrfache Zyklen keine befriedigende Anpassung erreichen. Die Probitanalyse ist zwar zulässig und möglich, aber die resultierende Kurve wird nicht sehr zuverlässig sein, was durch die breiten Vertrauensgrenzen zum Ausdruck kommt. Man spricht dann von Heterogenität der Daten.

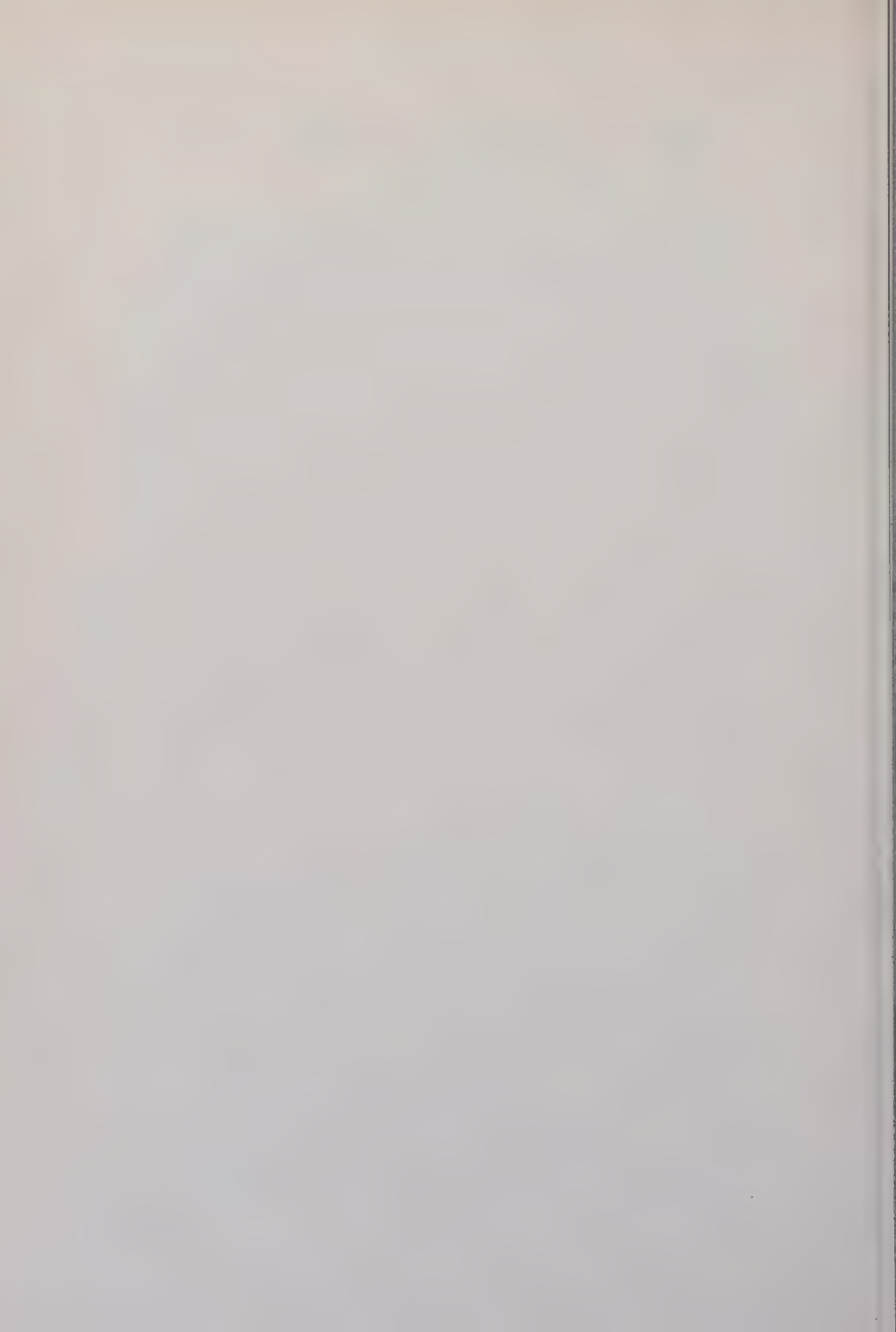
Im allgemeinen lagen aber die empirischen Werte angenähert auf einer Geraden und verteilten sich etwa gleichmäßig um den Mittelwert der tödlichen Dosis, so daß die LD 50-Werte nicht extrapoliert zu werden brauchten. Bis auf einige Fälle, die früher besprochen wurden, können also die LD 50-Werte als genügend gesichert gelten.



4.3 Einfluß von Geschlecht, Tageszeit oder Gewicht auf die Strahlenmortalität

Durch die Berechnung der LD 50-werte ist aber das Versuchsmaterial längst noch nicht ausgeschöpft. Man möchte weiterhin wissen, ob und wie verschiedene Faktoren, deren Einfluß sich nicht ausschließen ließ, zusätzlich auf die Strahlenmortalität wirkten. Diese Beziehungen konnten mit Hilfe der multiplen Regressionsanalysen untersucht werden. Damit bestand die Möglichkeit, den Einfluß der verschiedenen Variablen (wie Tageszeit, Geschlecht, Gewicht s. S. 27) auf die Strahlensterblichkeit durch Berechnung der partiellen Regressionskoeffizienten festzustellen und zu prüfen. Das gesamte Versuchsmaterial wurde auf diese Weise zweimal unterschiedlich bearbeitet. Für die Deutung der Versuchsergebnisse ist es wesentlich, ob die statistischen Resultate beider Auswertungen sich ergänzten, bestätigten oder in Frage stellten.

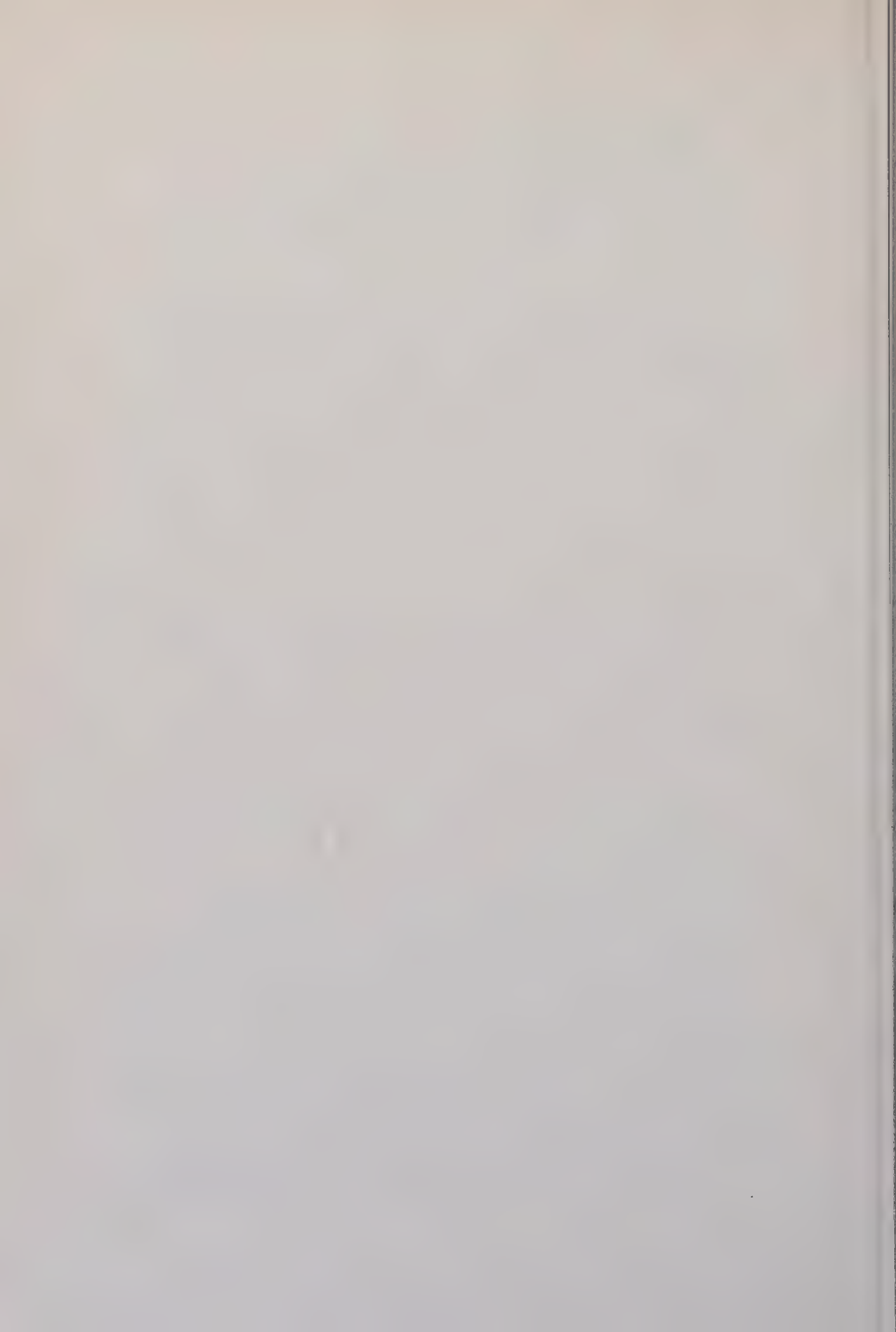
Da wir im vorliegenden Experiment Ratten beiderlei Geschlechts verwendeten, scheint es wesentlich zu prüfen, ob Geschlechtsunterschiede in der Strahlenempfindlichkeit bestehen. Im vorliegenden Versuch fanden wir jedoch keine signifikante Beziehung zwischen dem Geschlecht und der Strahlenmortalität (Tabelle 7, nach S. 28). Dieser Befund wurde mehrfach auch von anderen Autoren erhoben: KAPLAN und BROWN (1952) beobachteten keinen Geschlechtsunterschied in der Sterblichkeit, nachdem sie 33 Tage alte geschlossene Würfe C57BL-Mäuse röntgenbestrahlten hatten. KOHN und KALLMAN (1957)



exponierten FAC(I)F1-Ratten, ohne einen signifikanten Zusammenhang zwischen Mortalität und Geschlecht zu finden. Im Gegensatz dazu wurden an SAS/4-Mäusen solche Unterschiede beschrieben (CROSFIL, LINDOP, ROTBLAT 1959).

In unserem split-Dosis-Versuch erforderte es die Größe einiger Zeitabstände zwischen Bedingungs- und Testdosis, die zweite Bestrahlung abends oder sogar nachts vorzunehmen, wenn die erste Dosis frühmorgens appliziert worden war. Es wäre denkbar, daß die Ratten nachts entsprechend einer ergotropen Stoffwechsellage empfindlicher auf die Röntgen-Exposition reagieren als am Tage. Derartige Zusammenhänge zwischen Tageszeit und Strahlenempfindlichkeit muß man erfassen, um nicht irrtümlich tageszeitbedingte Änderungen der Sensibilität als "Ernolung" nach Bestrahlung zu deuten. Deshalb wurde die Mortalität für den Tag und die Tageszeit der Bedingungs-dosis und sämtliche folgenden Testdosen auch an nicht vorbestrahlten Tieren (Kollektiv B) kontrolliert. Wenn nun die Strahlenempfindlichkeit tatsächlich tageszeitabhängig wechselt, muß das in Änderungen der Sterblichkeit einen Ausdruck finden.

An den 32 und 24 Tage alten Ratten zeigte sich nach den Ergebnissen der multiplen Regressionsanalyse keine signifikante Beziehung zwischen Sterblichkeit und Tageszeit, wohl aber ($P < 0,01$) an den 12 Tage alten Jungtieren (Tabelle 7, nach J. 28). Der positive Regressionskoeffizient entspricht hier einer erhöhten Strahlensensibilität zwischen 0 und 2 Uhr. Zu dieser Zeit gaben wir die zweite Dosis im 18-Stunden-Intervall. Infolge der großen "natürlichen" Empfindlichkeit

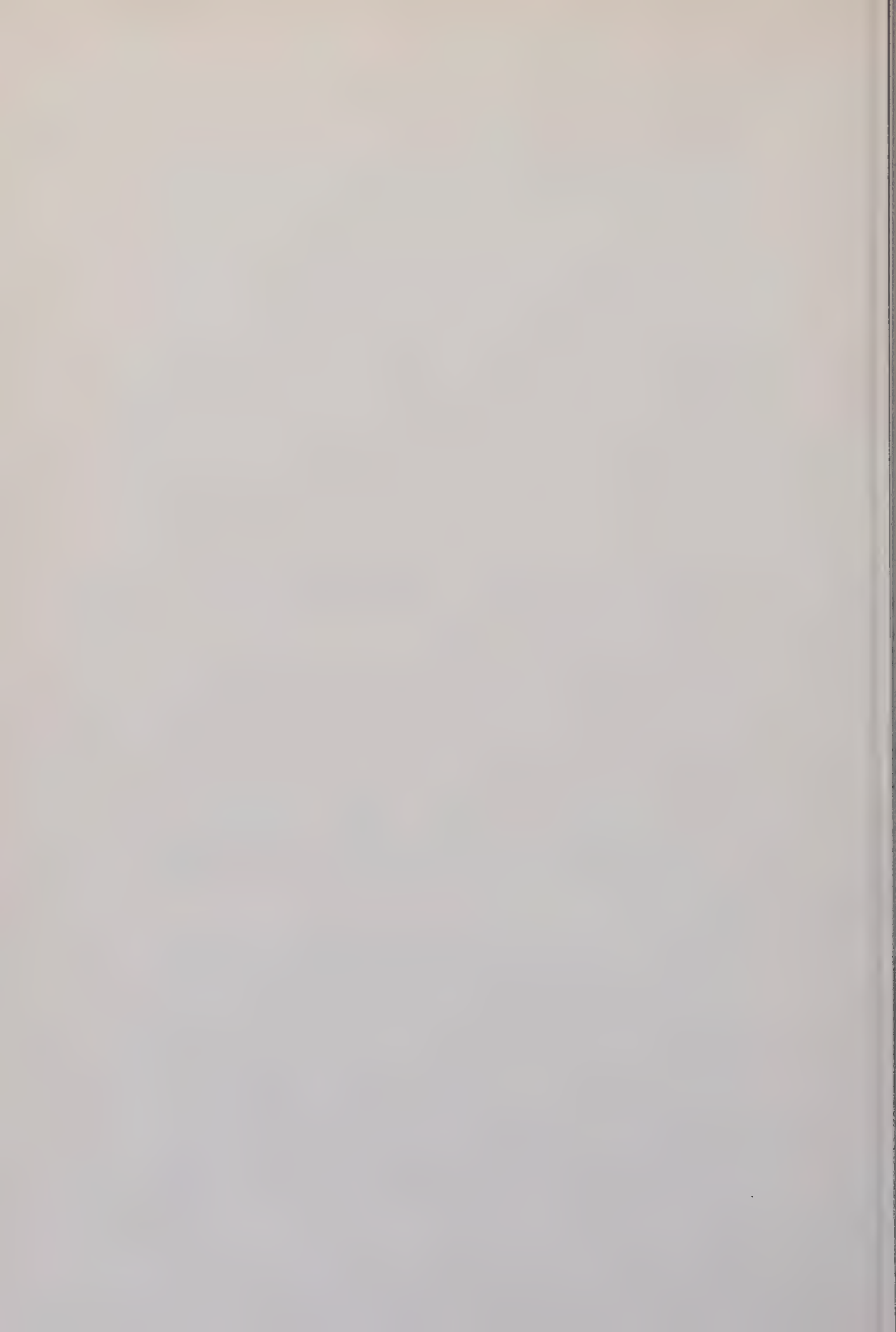


wäre der 18 Stunden nach Bedingungs-dosis beobachtete Restschaden fälschlich zu hoch und die Restschadenskurve (Abb. 12, nach S. 26) müßte korrigiert werden. Unbeeinflußt durch eine solche Korrektur blieben jedoch die beiden Extremwerte: Im Falle des Maximums waren Bedingungs- und Testdosis zur gleichen Tageszeit - nur mit 24 Stunden Abstand - appliziert worden, im Falle des Minimums fand sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Tageszeit und Mortalität.

Vermutlich beruht die am Tag 12 beobachtete signifikante Beziehung zwischen Tageszeit und Sterblichkeit auf einer nicht ausgewogenen Verteilung der Bestrahlungsdosen auf die einzelnen Tageszeiten. Eine nicht nur zufällig signifikante Beziehung würde bedeuten, daß tageszeitbedingte Änderungen der Strahlensensibilität vom Alter der Ratten abhängen; das aber ist recht unwahrscheinlich.

Leider ist eine endgültige Deutung dieses Befundes ohne zusätzlich Informationen nicht möglich. Für den Augenblick möchten wir annehmen, daß die Signifikanz hier zufällig auftrat und daß in Wirklichkeit keine tageszeitabhängigen Unterschiede in der Strahlenempfindlichkeit bestehen. Dafür sprechen nämlich weitere Untersuchungen.

Parallel zu einem anderen Experiment wurde an 32 Tage alten Ratten die Strahlensensibilität zu vier verschiedenen Tageszeiten, nämlich 6, 12, 18 und 24 Uhr getestet. Alle Tiere waren randomisiert und erhielten je eine von fünf abgestuften Strahlendosen. Es fand sich keine signifikante Beziehung zwischen Tageszeit und Sterblichkeit. Dasselbe Ergebnis haben KALLMAN, SILINI und FRINDEL (1964) an zwei verschie-

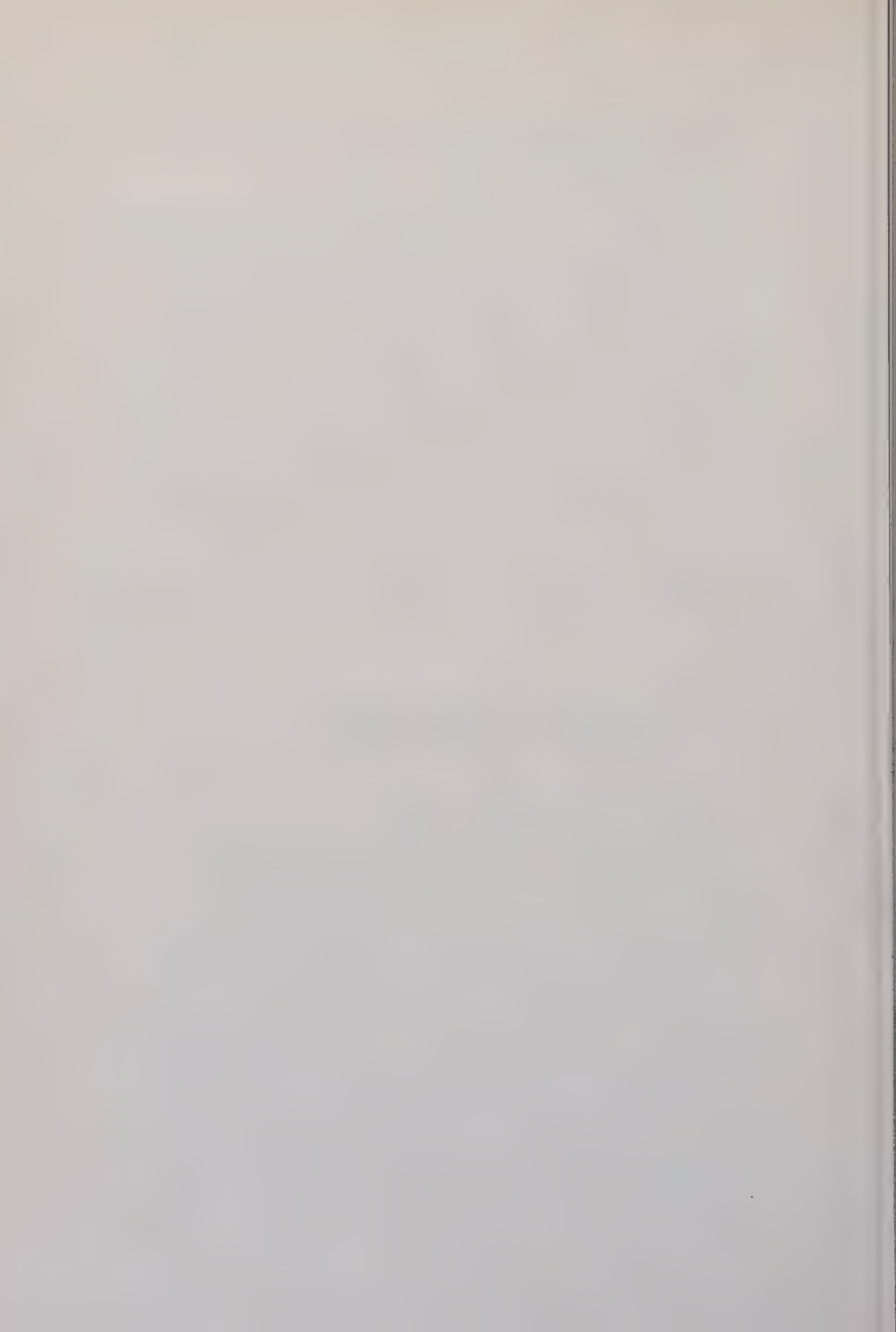


denen Mäusestämmen für die Tageszeiten 9, 15, 21 und 3 Uhr beobachtet.

Schließlich war noch zu prüfen, ob sich die Sterblichkeit ändert, wenn man Tiere zwar desselben Alters, aber verschiedenen Gewichts bestrahlt. Eine derartige, sogar hoch signifikante Beziehung zwischen Mortalität und Körpergewicht beobachteten wir ein einziges Mal an den 24 Tage alten Tieren (Tabelle 7, nach S. 28). Der negative Regressionskoeffizient besagt, daß die Ratten im Alter von 24 Tagen mit zunehmendem Gewicht strahlenresistenter werden. Ohne weitere Informationen können wir vorläufig nicht entscheiden, ob das auch für andere Altersklassen zutrifft. Die Ergebnisse der 12 und 32 Tage alten Jungtiere sprechen zunächst dagegen.

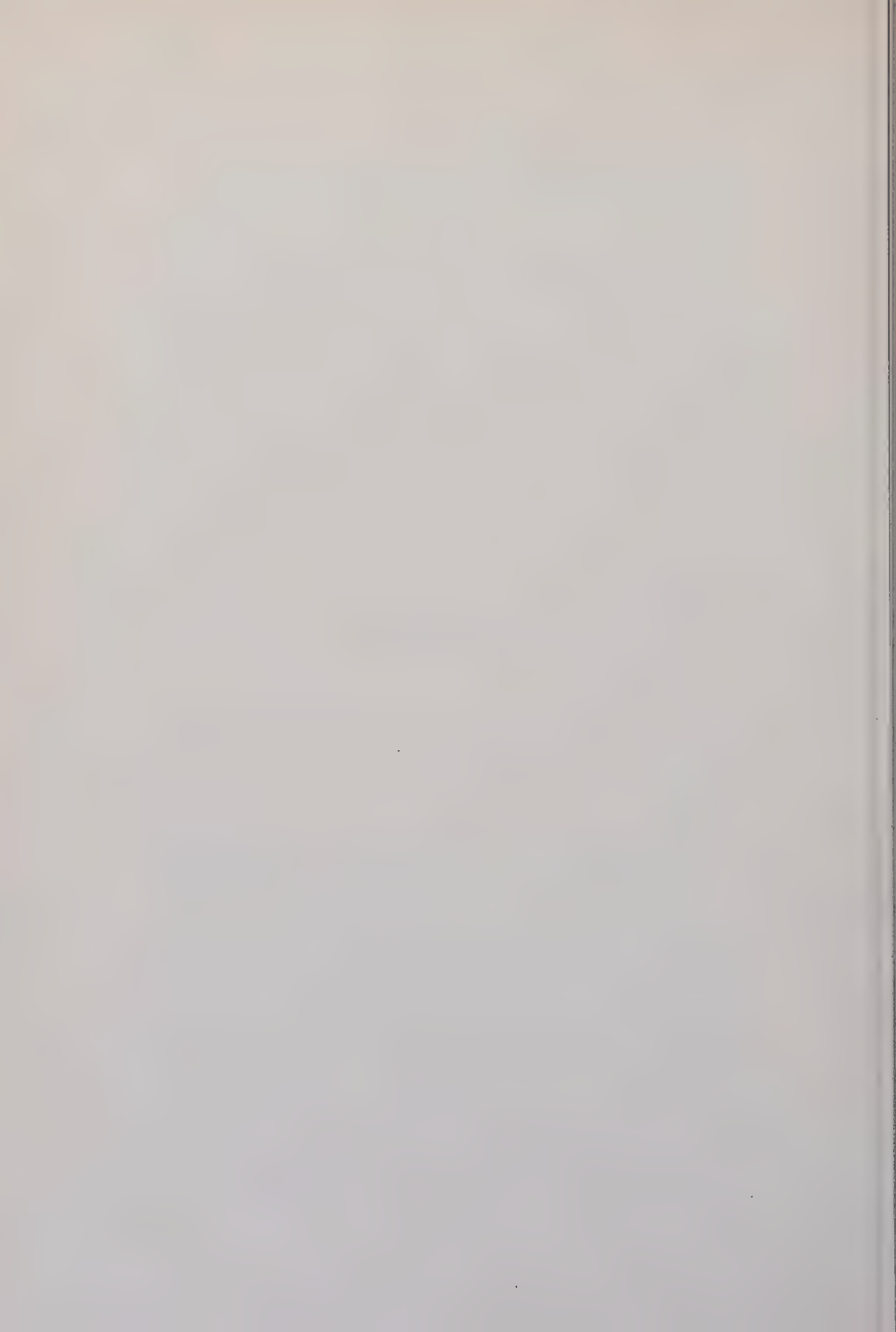
4.4 Erholung nach Bedingungs-dosis: Besprechung des "Restschadens"

Zur Schätzung der Erholung untersuchten wir den Restschaden in Abhängigkeit von der Zeit nach Bedingungs-dosis. Diese Beziehung läßt sich in keiner der drei verwendeten Altersgruppen durch eine einfache lineare oder exponentielle Zeitabhängigkeit beschreiben. Wenigstens ein ausgeprägter Extremwert des prozentualen Restschadens wurde in jedem Alter beobachtet: Die 12 Tage alten Ratten zeigen eine vollständige Fluktuation der Restschadenskurve, in den beiden älteren Tiergruppen ist sie fast vollständig. (Abb. 12, nach S. 26). Alle drei Kurven unterscheiden sich quantitativ erheblich. Sie weisen aber qualitativ ähnliche Abschnitte auf



in der Zeit zwischen 6 bzw. 9 und 18 Stunden nach Bedingungs-dosis: hier liegt jeweils ein Minimum mit einem nachfolgenden Anstieg des Restschadens. Dieser erreicht in den beiden jüngeren Altersgruppen ein deutliches Maximum bis 24 Stunden nach D_c , in der ältesten ändert er sich nicht zwischen 15 und 24 Stunden nach Bedingungs-dosis. Aus technischen Gründen konnten wir während der Zeitspanne 24 bis 48 Stunden nach Vorbestrahlung den Restschaden nicht untersuchen. Er könnte in diesem Zeitabschnitt den gleichen, einen höheren oder niedrigeren Wert annehmen als nach 48 Stunden: entsprechend würde der Verlauf der Restschadenskurve 48 Stunden nach D_c sich gar nicht ändern, fallen oder steigen und damit eine Aussage über den Erholungsverlauf gestatten. So aber fällt es schwer, den 48-Stunden-Wert des Restschadens zu deuten.

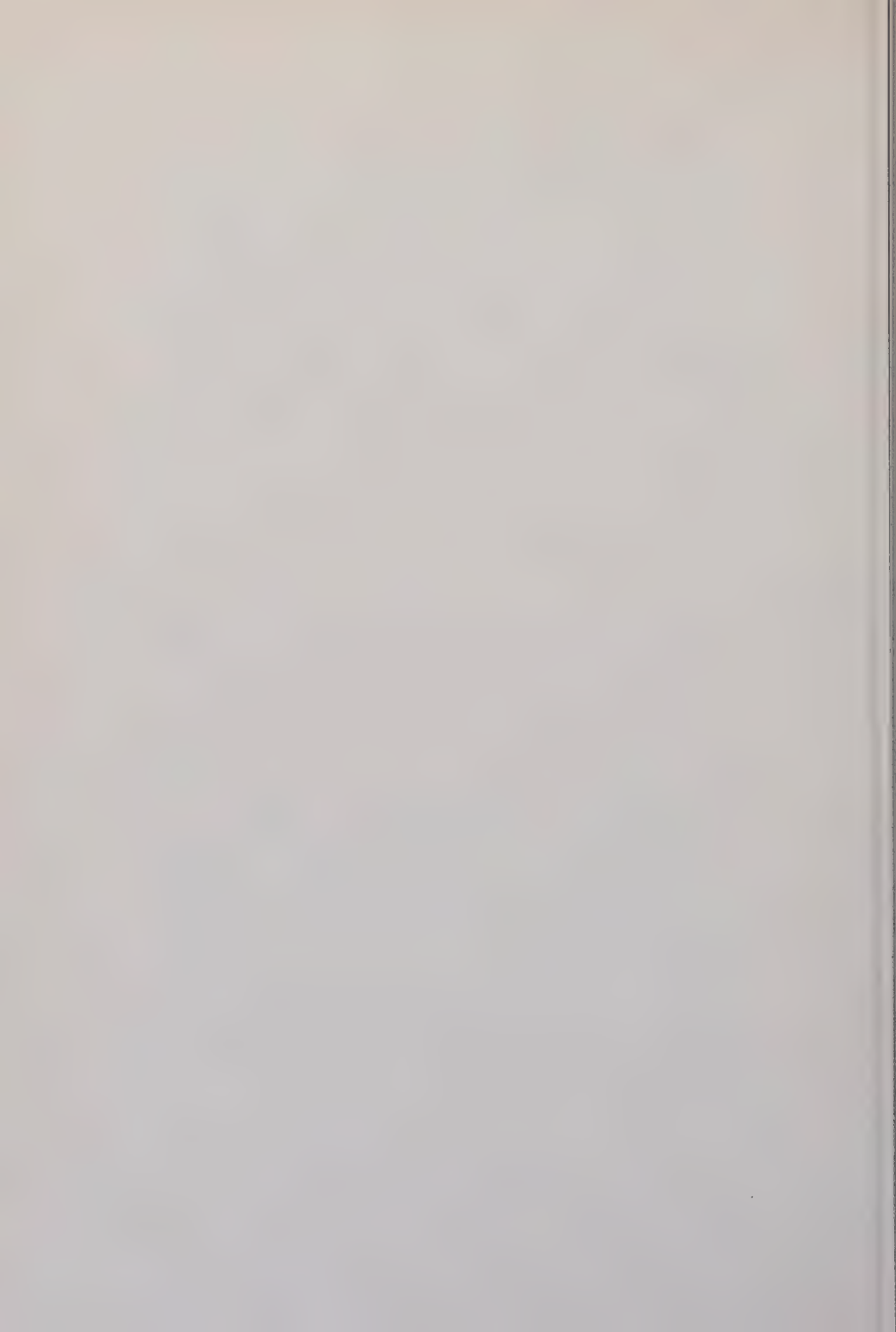
Da wir die Strahlenempfindlichkeit 48 Stunden nach Bedingungs-dosis unterschätzten, wählten wir in allen Altersgruppen die verabreichten Dosen zu hoch. Die empirischen Werte wichen teils beträchtlich von der im Probitsystem erwarteten linearen Beziehung zwischen Dosis und Mortalität ab, der Anteil/der gestorbenen Tiere war stets größer als 50 %. Die zugehörigen LD 50(30)-werte mußten extrapoliert werden und erscheinen deshalb nicht befriedigend gesichert; der Wert einer Restschadensberechnung wird dadurch zweifelhaft. Die große Abhängigkeit des Restschadens von der Sicherung der LD 50-Werte zeigt, daß die Schätzung der Erholung mittels des Restschadens besonders hinsichtlich quantitativer Aussagen noch kein optimales Verfahren darstellt. Der Restschaden in R ist die Differenz zweier



LD 50-Werte (vgl. S. 15), von denen einer als "Kontrollwert" gilt, nämlich der von nur einmal bestrahlten Tieren. Leider ist die Kontroll-LD 50 keine Konstante, wie ein Beispiel verdeutlichen soll: Nach Vorversuchen erwarteten wir für die 32 Tage alten Ratten eine LD 50(30) von etwa 520 R und wählten die Bedingungs-dosis für unser split-Dosis-Experiment mit 260 R entsprechend halb so groß. Im vorliegenden Versuch betrug die Kontroll-LD 50 tatsächlich aber nur 443 R. KALLMAN und SILINI (1963) berichteten, daß an C57BL-Mäusen Änderungen der LD 50 um sogar 100 R vorkamen.

In einem split-Dosis-Experiment wären Schwankungen der Kontroll-LD 50 - gleichgültig ob nach oben oder unten - bedeutungslos, wenn sich gleichzeitig die LD 50-Werte für bestimmte Zeitintervalle nach Bedingungs-dosis systematisch änderten: der absolute Betrag des Restschadens bliebe derselbe. Wenn sich aber die LD 50-Werte gegensinnig verschieben innerhalb einzelner Versuchswiederholungen, so wird eine halbwegs gesicherte quantitative Aussage über den Restschaden unmöglich. Gegenläufige Änderungen der LD 50-Werte lassen sich aber nicht mit Gewißheit ausschließen; daher erscheint es vernünftig, berechnete Restschadenskurven nur qualitativ zu betrachten.

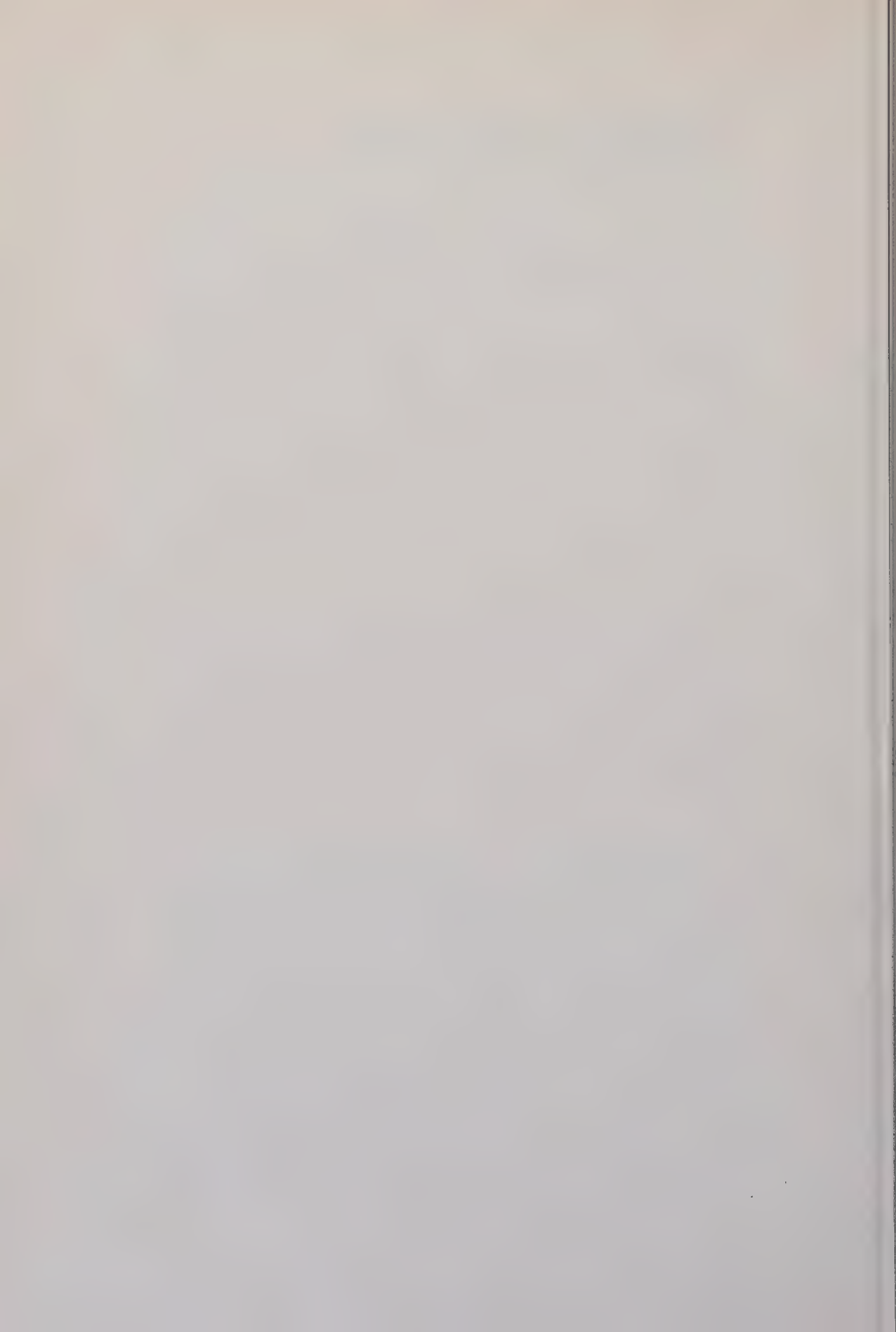
Dennoch schien die Bestimmung des Restschadens trotz der beschriebenen Mängel erforderlich, weil sie den Vergleich mit den Ergebnissen anderer Untersucher erst ermöglicht.



4.5 Erholung nach Bedingungs-dosis: Besprechung der multiplen Regression

Günstigere Verhältnisse ergeben sich, wenn man an Stelle des auf der LD 50 beruhenden Restschadens die Mortalität in allen Dosisbereichen untersucht. Das geschah mit Hilfe der multiplen Regressionsanalyse. Hier wurden den kombinierten empirischen Werten aller Altersstufen bestapproximierende Polynome dritten Grades anpaßt. Daß die Beziehung zwischen Mortalität und Zeit nach D_c nur durch eine einzige Fluktuation (Abb. 13, nach S. 31) repräsentiert wird, ist sehr wahrscheinlich, da eine versuchte Anpassung eines Polynoms fünften Grades keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen den einzelnen Zeitabständen lieferte. Die getrennt für jede Altersgruppe berechneten Polynome dritten Grades sollten klären, ob vielleicht eine Wechselwirkung zwischen Alter und Bestrahlungsintervall besteht (Abb. 14, nach S. 32). Was besagen nun diese Polynome und wie verhalten sie sich zum zeitlichen Verlauf des Restschadens?

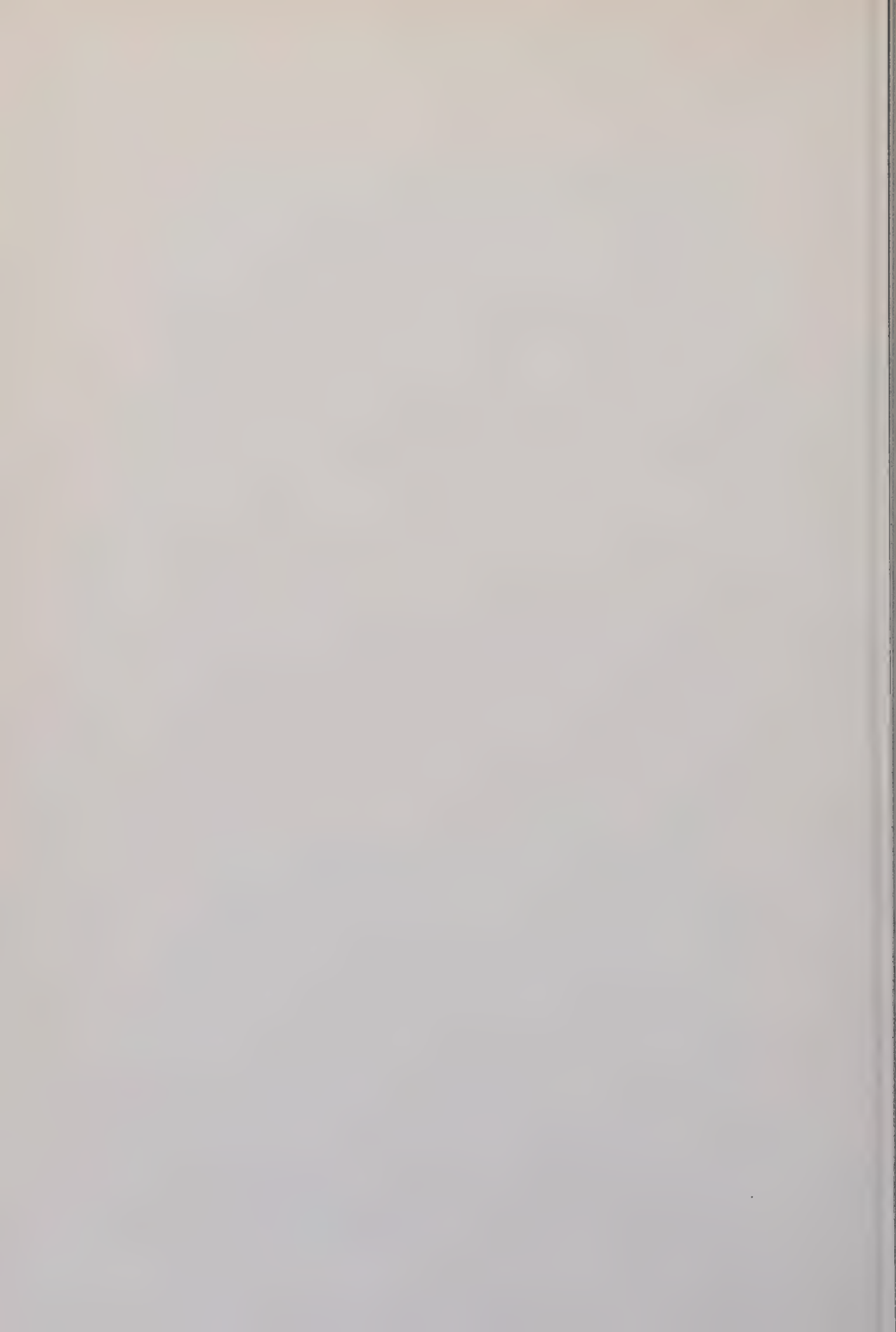
Qualitativ scheinen die Kurven der 12 und 32 Tage Ratten identisch zu sein. Beide beginnen mit einer verhältnismäßig hohen Mortalität 6 Stunden nach Bedingungs-dosis, durchlaufen nach 14 bis 16 Stunden ein Minimum und erreichen um 36 Stunden nach D_c ein Maximum mit folgendem stetigen Abfallen der Mortalität bis zum 48-Stunden-Wert. Spiegelbildlich scheint sich die Sterblichkeit in der mittleren Altersgruppe zu verhalten. Hier findet sich zuerst ein Maximum nach 12 Stunden, dem ein Minimum nach 37 Stunden mit anschließendem erneutem Anstieg bis



48 Stunden nach Bedingungs-dosis folgt. Hält man das Polynom für sehr gut gesichert, so läßt sich nicht ausschließen, daß zwischen 0 und 6 Stunden nach D_0 ein weiterer Extremwert auftreten könnte. Zieht man dagegen in Betracht, daß die berechneten Polynome den Zusammenhang zwischen split-Zeit und Mortalität lediglich für das Intervall 6 bis 48 Stunden nach Vorbestrahlung beschreiben, so scheint eine Klärung des wirklichen Kurvenverlaufs nur durch eine Wiederholung des Experiments möglich zu sein.

Restschadenskurven und Polynome scheinen einander zwischen 6 und 24 Stunden nach Bedingungs-dosis zu bestätigen, denn qualitativ entsprechen die Polynome bis zum Wendepunkt dem Restschadensverlauf. Diesen Eindruck können auch die mäßigen Verschiebungen der Extremwerte der Mortalität gegenüber dem Restschaden nicht verwischen. Über die Zeit zwischen 24 und 48 Stunden nach Vorbestrahlung sind nur bedingt gültige Aussagen möglich. Die innerhalb dieses Intervalls durchlaufenen Minima und Maxima sind allein durch die Funktion erzwungen, da die Extremwerte hier punktsymmetrisch zum Wendepunkt liegen müssen. Diese Symmetrie ist am Tag 12 nicht zu erkennen, weil die Winkelfunktion im Bereich 36 Stunden nach D_0 einen Wert $> 90^\circ$ annahm, so daß durch die Rücktransformation in diesem Fall Verzerrungen auftreten.

Aus unseren Untersuchungen geht Folgendes hervor: Mit großer Wahrscheinlichkeit verläuft unabhängig vom Alter der bestrahlten Tiere die Erholung nach einer subletalen Dosis Röntgenstrahlen wellenförmig mit wenigstens einer Fluktuation. Aus den Ergebnissen der 12 und

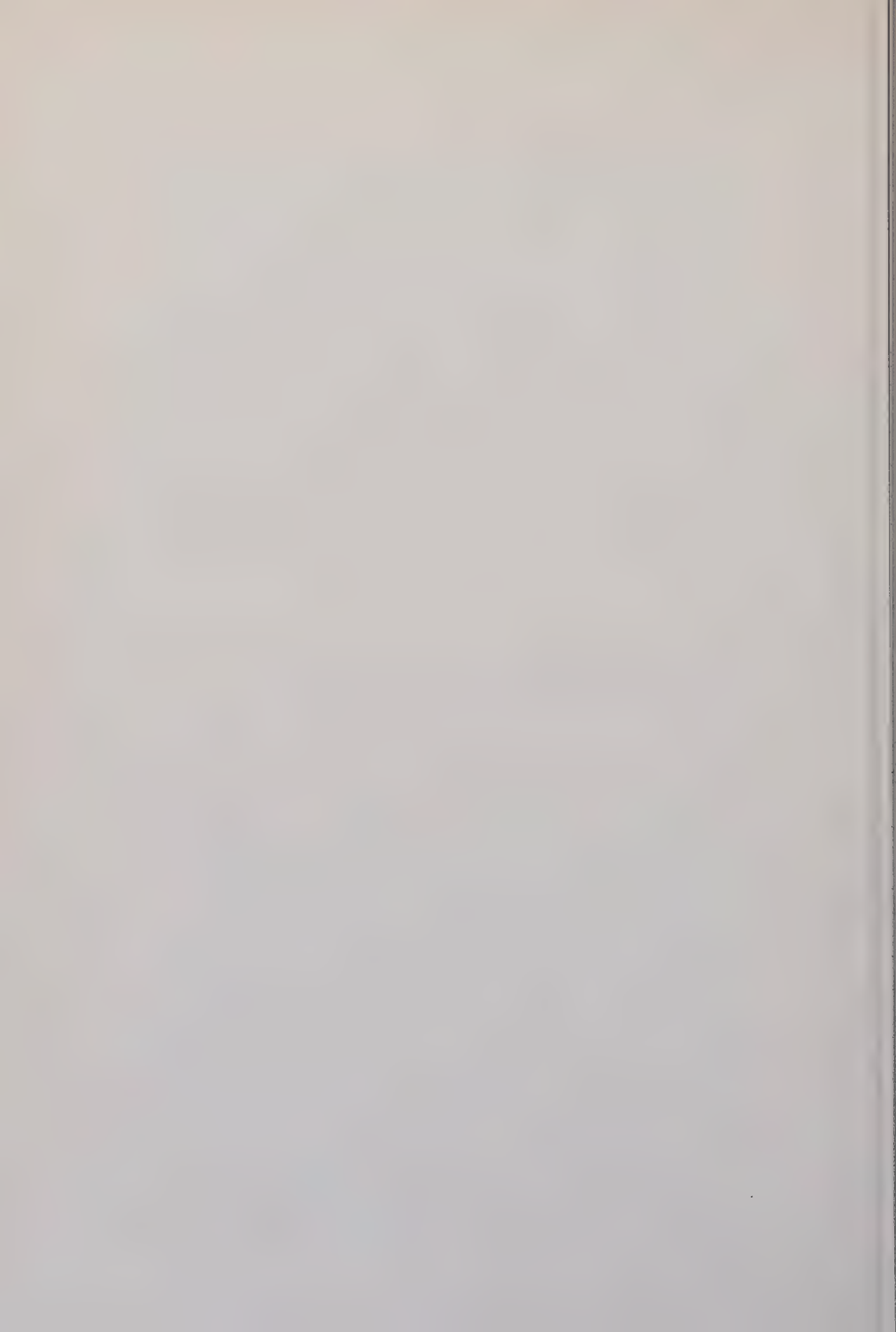


32 Tage alten Tiere läßt sich vielleicht schließen, daß die Extremwerte unabhängig vom Alter etwa zur gleichen Zeit nach Bedingungs-dosis auftreten; die Ergebnisse der 24 Tage alten Ratten scheinen allerdings dagegen zu sprechen. Wir können aber anhand des vorliegenden Materials nicht entscheiden, ob sich die 24 Tage alten Jungtiere tatsächlich anders verhalten oder ob es sich um Zufallsbefunde handelt. Eine befriedigende Klärung dieser und weiterer Fragen nach der realen Zahl von Fluktuationen im gleichen Zeitabschnitt, nach der Amplitude und der genaueren Lage der Extremwerte ließe sich möglicherweise durch Wiederholungen des Versuchs erreichen.

4.6 Erholung nach Bedingungs-dosis: Vergleich mit anderen Untersuchungen

Experimente zur Schätzung der Erholung mittels split-Dosis-Technik wurden seit HAGEN und SIMMONS (1943) mehrfach durchgeführt. Lange Zeit vermutete man aber, daß sich der Erholungsprozeß mit einer einfachen exponentiellen oder linearen Zeitabhängigkeit beschreiben ließe. Ergebnisse, die zu keiner dieser Annahmen so recht paßten, wurden erstmals von MOLE (1956) gefunden. Er benutzte in seinem Experiment fünf bis sechs Monate alte weibliche CBA-Mäuse, die er in zwei Gruppen aufteilte. Zu gewissen Zeitintervallen vor der LD 50-Bestimmung bekam das eine Kollektiv eine subletale Bedingungs-dosis, das andere nicht. Die zweite Gruppe diente als Kontrolle für die erste.

Zu allen Intervallen zwischen 6 Stunden und 20

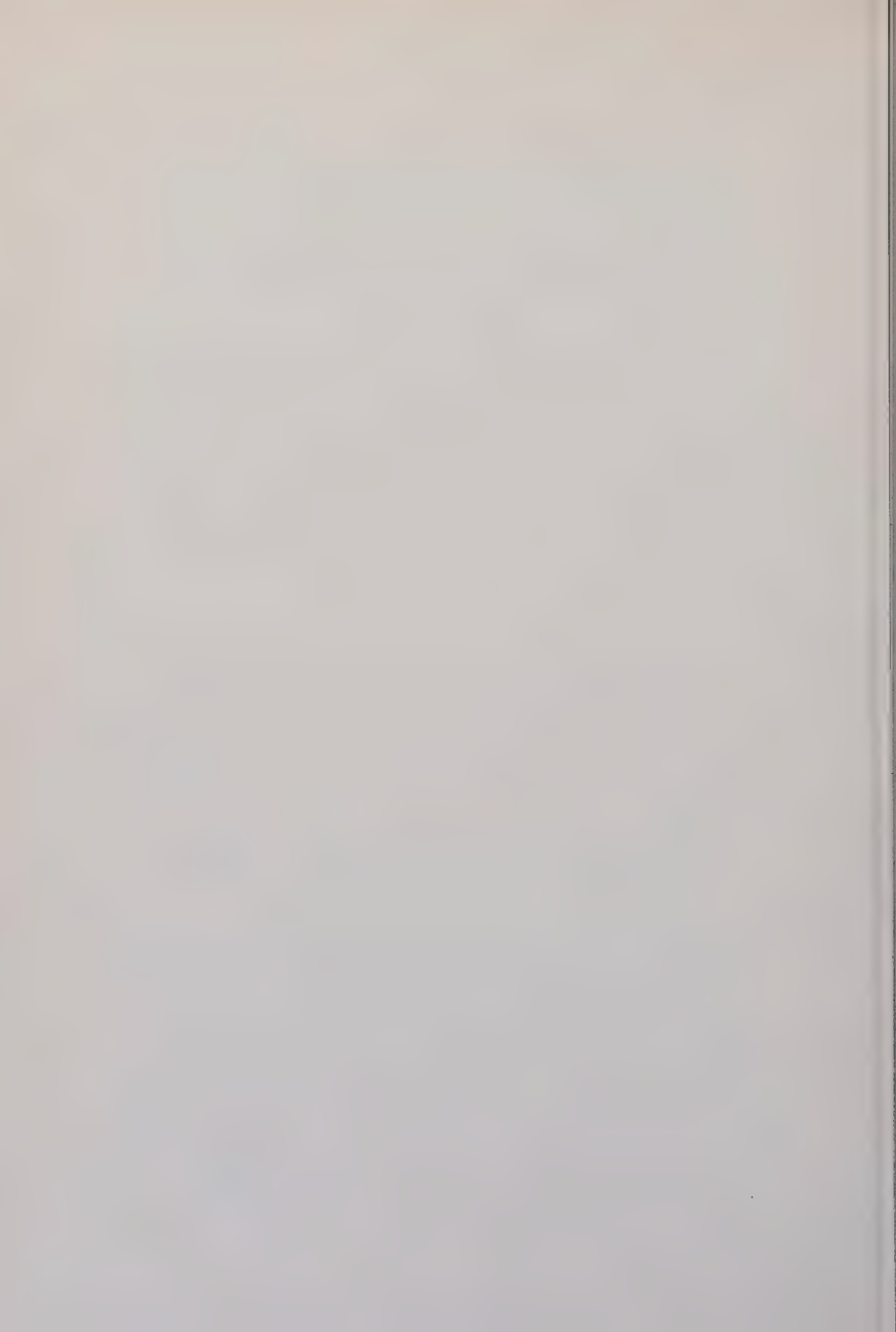


Tagen lagen die LD 50-Werte der vorbestrahlten Tiere deutlich niedriger als die der Kontrollgruppen. Diese Differenz entspricht dem Restschaden in R, der nach der Vorbestrahlung mit 400 R zurückblieb. Die Erholungsrate ist gegeben durch den Betrag, um den der Restschaden mit der Zeit abnimmt.

Zu seiner Überraschung fand MOLE 6 bis 12 Stunden nach Bedingungs-dosis eine sehr schnelle Erholung, die jedoch offenbar infolge einer Umkehr der Erholungsprozesse nach 24 Stunden beträchtlich abnahm. Danach verlief die Erholung exponentiell für die LD 50(30), linear für die LD 50(150). Die Fluktuation innerhalb der ersten 24 Stunden nach Bestrahlung ließ sich jedoch noch nicht erklären.

Die wohl umfangreichsten split-Dosis-Experimente zur Schätzung der Erholung nach einer subletalen Bedingungs-dosis wurden an Mäusen von KALLMAN und seinen Mitarbeitern durchgeführt (KALLMAN und SILINI 1963; KALLMAN, SILINI, FRINDEL 1964). Anlässlich des amerikanisch-japanischen Strahlenbiologen-Kongresses in Ōiso (Japan) stellte KALLMAN seine Versuchsergebnisse umfassend dar. (1965).

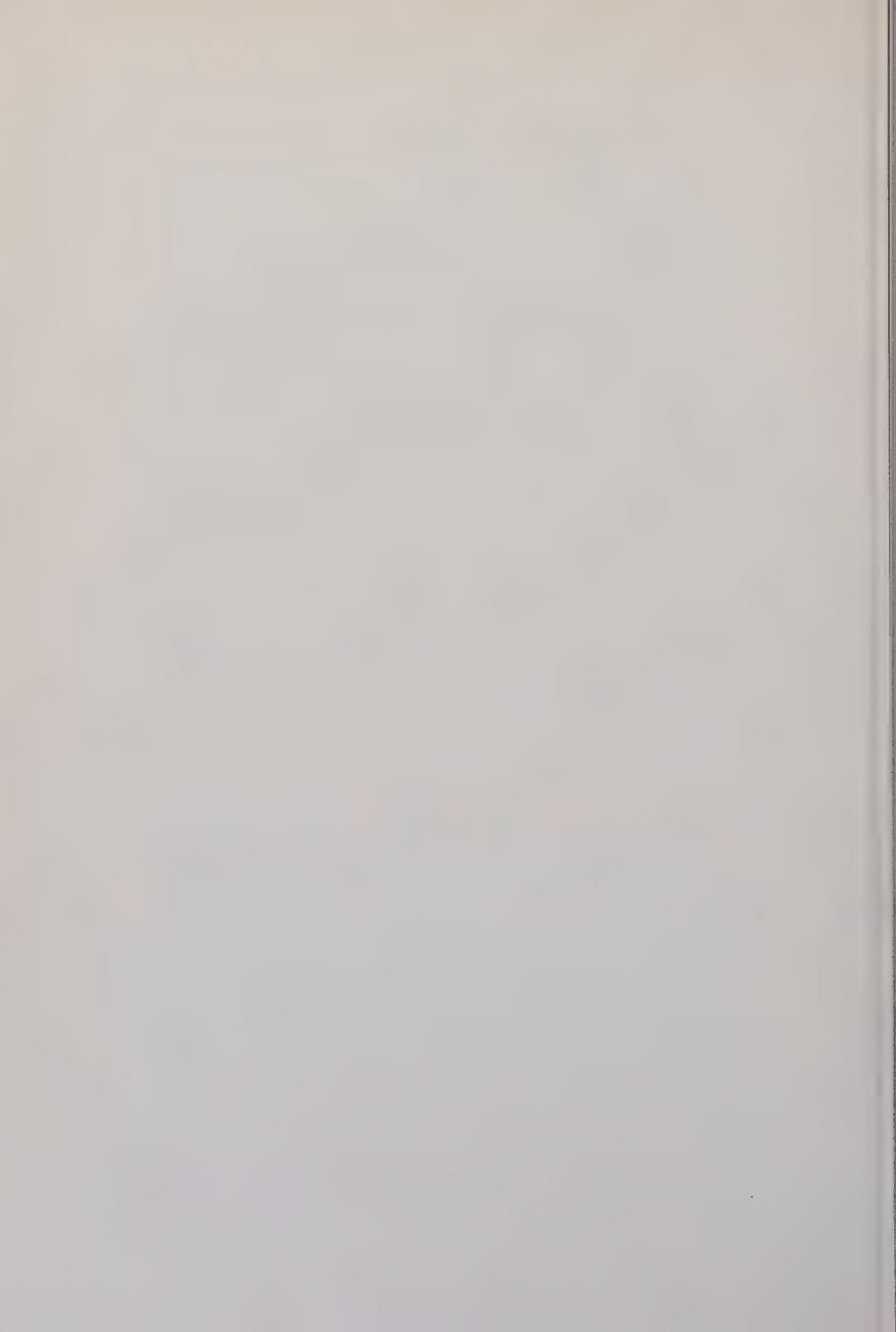
Diese split-Dosis-Experimente wurden jeweils mit 250 KV-Röntgenstrahlen an erwachsenen männlichen C57BL- und BALB/c-Mäusen unternommen. Die nach Vorbestrahlung untersuchte Zeit betrug meist 48 Stunden, aufgeteilt in Intervalle von drei und manchmal sogar nur eineinhalb Stunden. KALLMAN benutzte drei verschiedene Bedingungs-dosen, nämlich 150, 300 und 450 R. Die Erholung nach diesen Dosen schätzte er einmal durch LD 50(30)-Bestimmung, zum andern durch die Mor-



talität nach einer konstanten Zweitdosis. Alle Experimente wurden zwei- bis dreimal wiederholt.

Wie sehen die Versuchsergebnisse nun aus? In der Gruppe der nur einmal bestrahlten Kontrollen zeigten sich die BALB/c empfindlicher als die C57BL-Mäuse, die LD 50(30)-werte differierten um 160 R. Im Verlauf der 48 Stunden nach Bedingungs-dosis traten meist drei Fluktuationen unabhängig von der Höhe der Erstdosis auf. Diese Fluktuationen sind innerhalb der einzelnen Wiederholungen oft um einige Stunden gegeneinander verschoben. Dennoch lassen sich bei genauerer Betrachtung aus allen Einzelversuchen Kurvenabschnitte herausfinden, die ungefähr übereinstimmen: Die C57BL-Mäuse zeigen für die angewandten Bedingungs-dosen Minima des Restschadens nach etwa 6 und 24 (bis 30) Stunden, Maxima nach etwa 12 und 30 (bis 36) Stunden. Diese Werte erhielt man auch nach Zusammenfassung der Einzelergebnisse aller Wiederholungen in einer Gesamtauswertung.

Mehr als drei Fluktuationen zeigten sich in den Versuchen mit nur eineinhalbstündigen Intervallen nach Bedingungs-dosis. Das entsprach genau der Vorstellung von KALLMAN, mittels kleinerer Intervalle von nur eineinhalb statt drei Stunden möglichst viele Fluktuationen erfassen zu können. Da KALLMAN gerade in diesen Versuchen zu allen Zeitabständen nach Bedingungs-dosis nur eine einzige, konstante Zweitdosis applizierte, scheint die Höhe der Mortalität zufälligen Einflüssen ziemlich stark unterworfen: normale biologische Schwankungen der Strahlensensibilität, auf die früher schon hingewiesen wurde (S. 42), erzeugen jetzt unweigerlich auch dann "Fluktuationen",

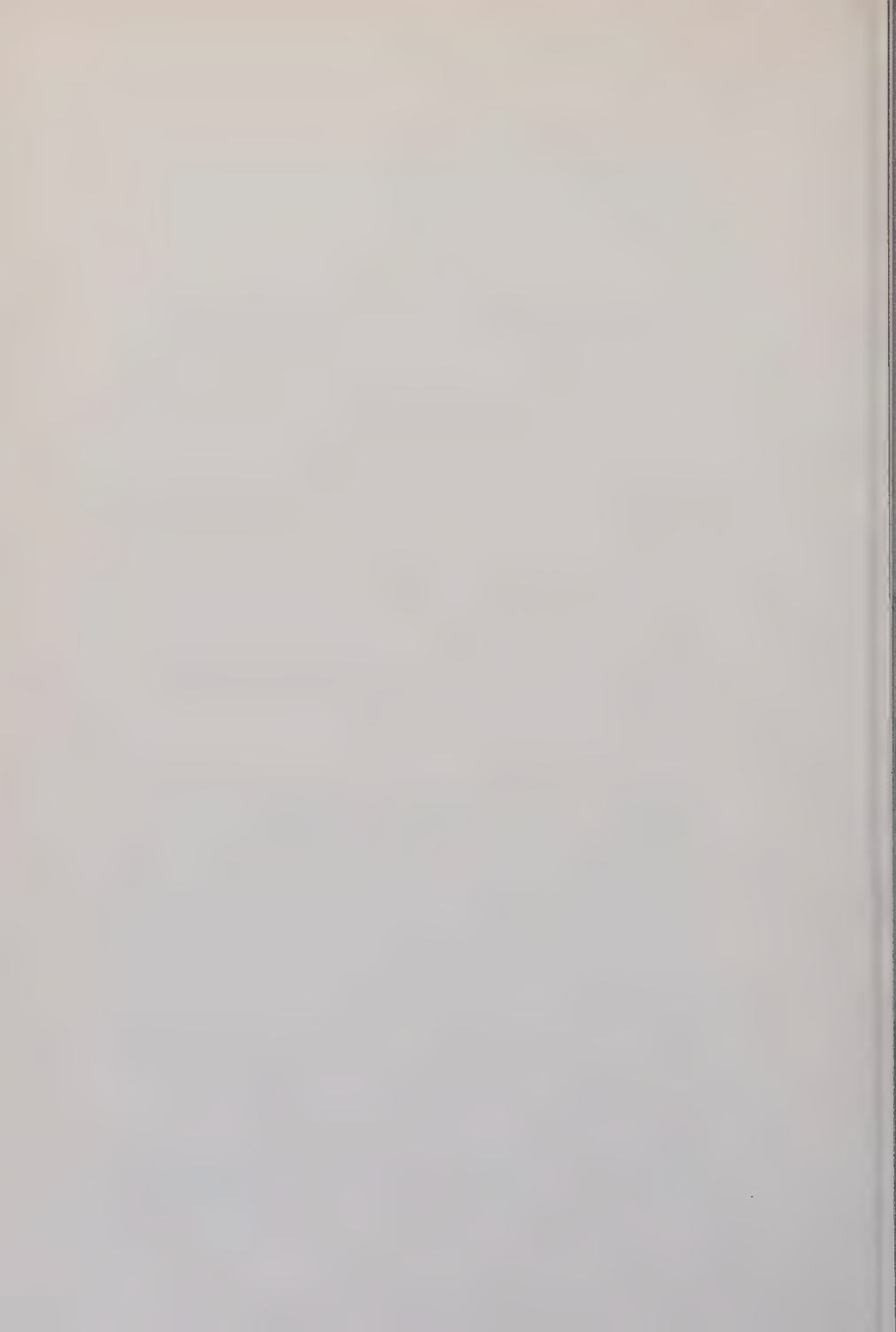


wenn in Wirklichkeit keine bestehen. Innerhalb der Wiederholungen gleicher Versuche lassen sich oft beträchtliche Verlagerungen der Fluktuationen erkennen.

Wenn wir nun unsere Ergebnisse mit denen von KALLMAN und seinen Mitarbeitern (1964) vergleichen, so fällt auf, daß wir innerhalb der 48 Stunden nach Bedingungs-dosis nur eine einzige Fluktuation beobachteten (Abb. 14, nach S. 32). Dieses Ergebnis fanden wir sogar in drei Altersgruppen gleichzeitig. Daß wir Ratten statt Mäusen und junge statt erwachsener Tiere benutzten, könnten die Gründe für unseren Befund sein. Schließlich wäre aber auch zu bedenken, das wir unter Verwendung kürzerer Intervalle möglicherweise mehr als nur eine Fluktuation finden würden. Diese Frage ließe sich aber nur durch eine Wiederholung unseres Experimentes beantworten.

KALLMAN kann jedoch trotz mehrfacher Wiederholungen seiner Versuche nicht schlüssig angeben, wieviele Fluktuationen der Restschadenskurve denn nun tatsächlich auftreten, zu welcher Zeit sie erscheinen und welche Größe ihre Amplituden erreichen. Derartige quantitative Aussagen werden unmöglich, da KALLMAN bei der Wiederholung gleicher Experimente deutliche Abweichungen beobachtete.

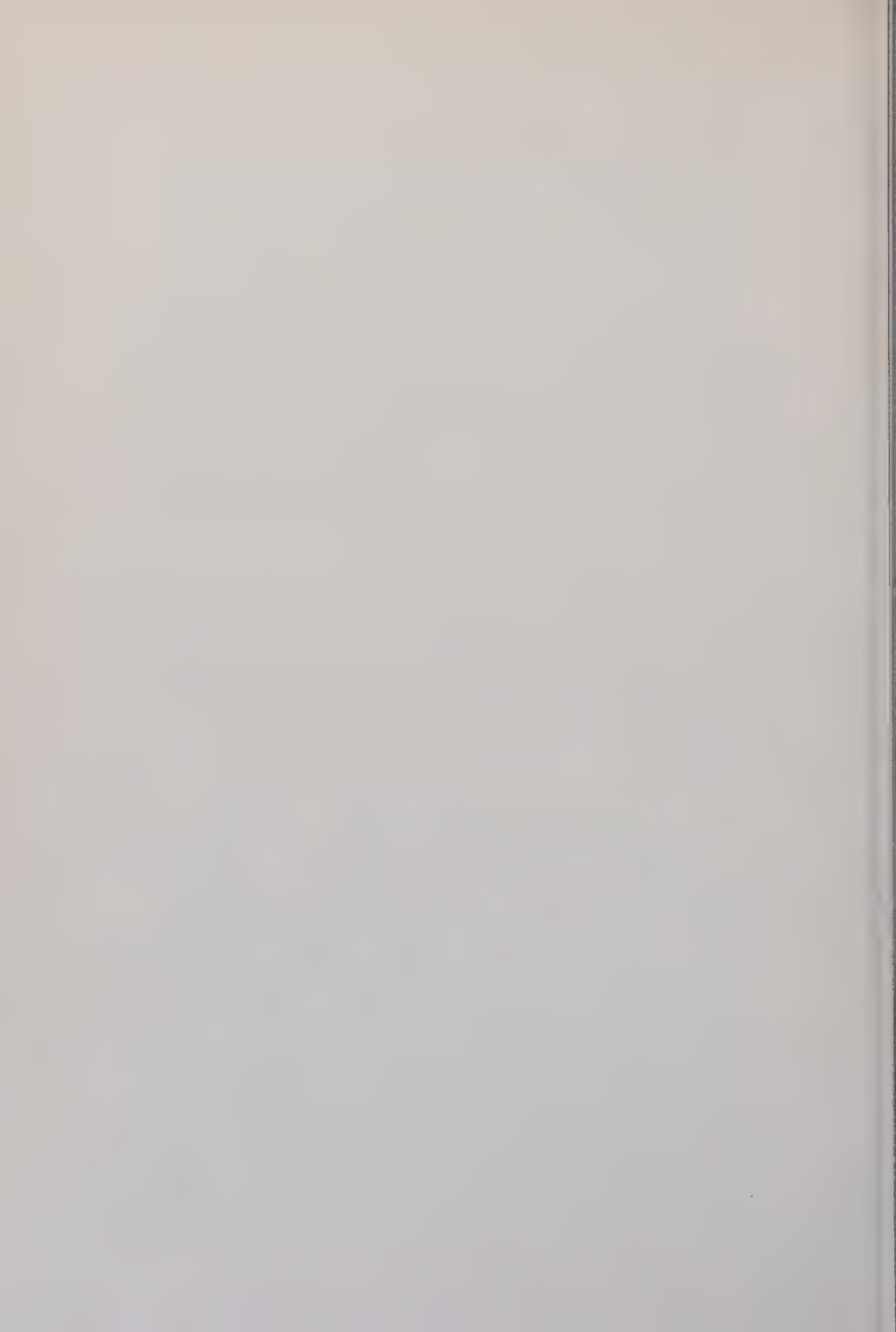
In der Größenordnung dieser Abweichungen liegen aber auch die Unterschiede, die wir zwischen den drei Altersstufen fanden. Daraus könnte man schließen, daß die von uns beobachteten Verschiebungen der Fluktuationen für die 12, 24 oder 32 Tage alten Ratten nicht altersbedingt sein müssen, sondern vielleicht auch eine zufällige



und normale biologische Schwankung repräsentieren. Wenn wirklich unter den 12, 24 und 32 Tagen alten Ratten kein altersabhängiger Unterschied für die Beziehung zwischen Restschaden und Zeit nach Bedingungs-dosis besteht, kann man jeden Versuch mit einer anderen Altersgruppe als gleichzeitige Wiederholung desselben Experimentes auffassen. Dann würde die Wahrscheinlichkeit größer, daß unsere einzige Fluktuation durch die Spezies Ratte, KALLMANs mehrfache durch die Spezies Maus zu erklären ist vorausgesetzt, daß wir nach einer Wiederholung des Versuchs mit kürzeren Intervallen auch nur eine einzige Fluktuation beobachten würden.

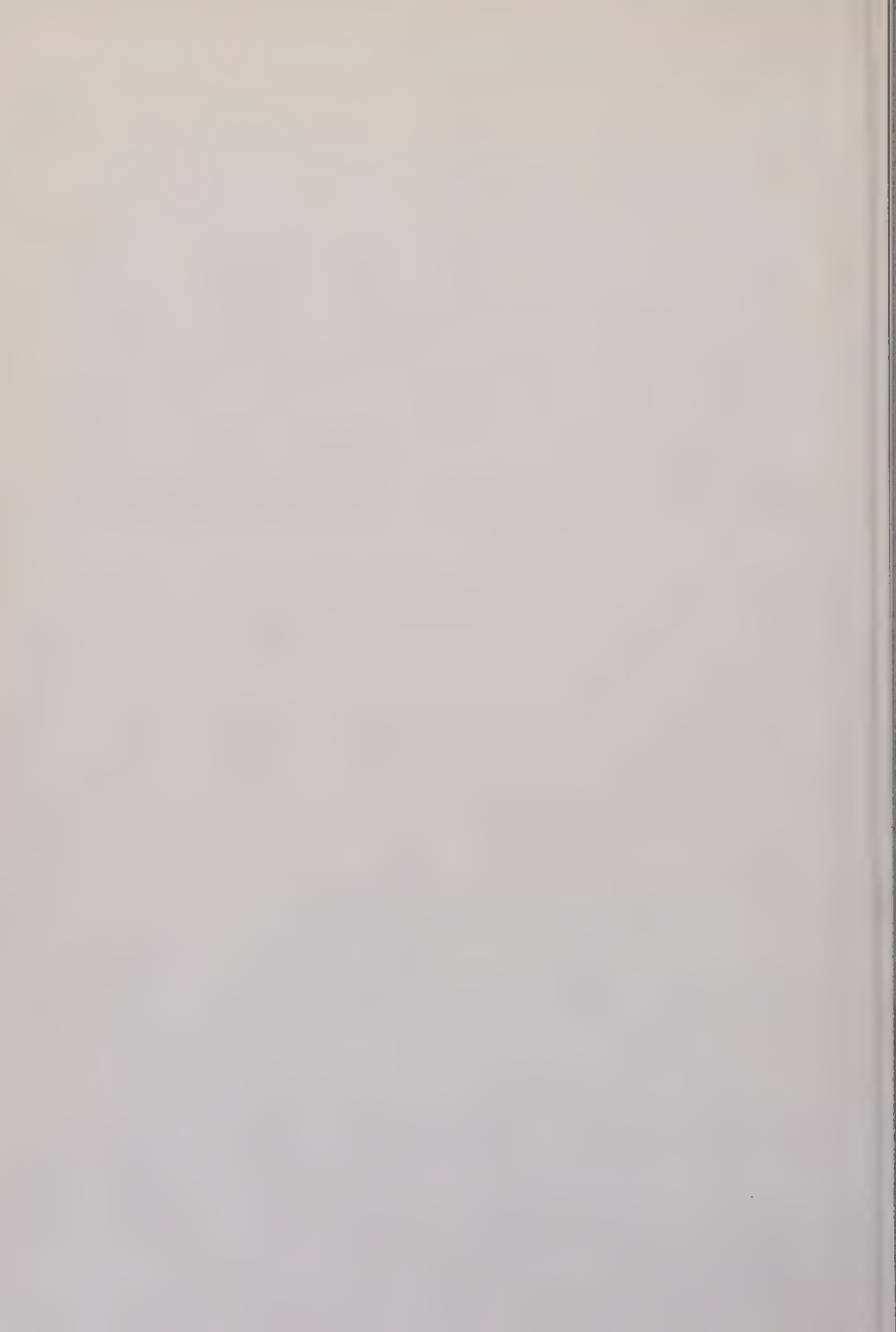
In den bisher betrachteten split-Dosis-Experimenten zur Schätzung der Erholung wurden die Versuchstiere lediglich einmal mit einer akuten Bedingungs-dosis bestrahlt, bevor man zu verschiedenen Zeitabständen danach - meist 48 Stunden später - die LD 50(30) bestimmte.

Damit sind aber die Möglichkeiten der split-Dosis-Technik keineswegs erschöpft. Seit dem klassischen Experiment von HAGEN und SIMMONS (1943) variierte man die Methode und benutzte beispielsweise statt der akuten Bedingungs-dosis chronische oder fraktionierte Bestrahlungen, bevor man nach teils wochenlangen bestrahlungsfreien Intervallen die LD 50-Werte ermittelte. Alle derartigen Experimente sollten möglichst viele Informationen über die Erholungsvorgänge nach Bestrahlung liefern. Auf eine Betrachtung der zahlreichen Versuche möchten wir hier verzichten. In Tabelle 9 (nach S. 49) bringen wir lediglich eine Übersicht.



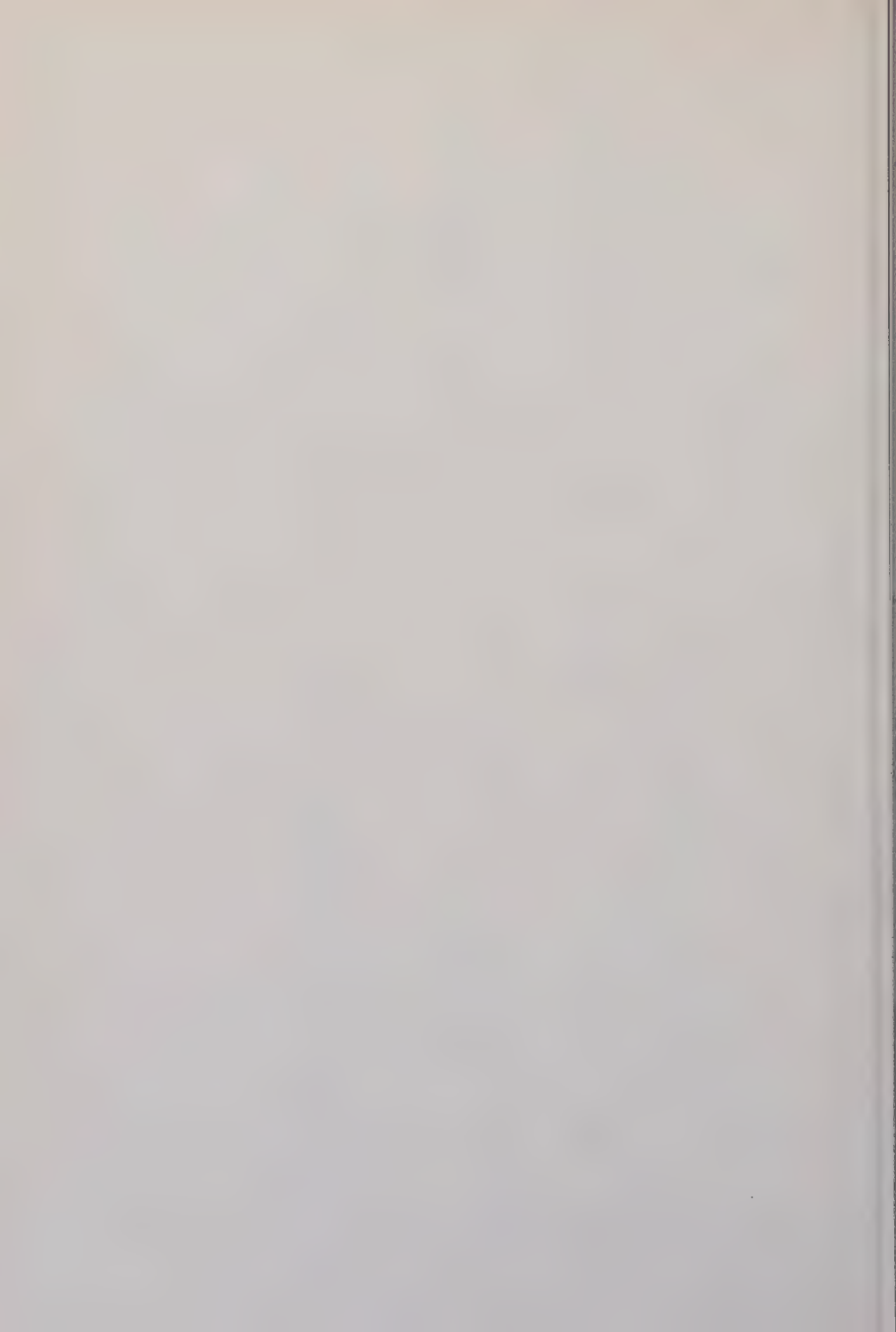
Autor	Tier	Vorbestrahlung D _c	Zeit zwischen D _c und D _t		Untersucht	Beobachtungen
MOLE 1956	CBA Maus	400 R, R ₀	6n bis 20d	LD 50		Frühe Fluktuation, Max. 12h nach D _c , Min. 24h nach D _c ; anschließend expo- nentieller Verlauf
		200 R, R ₀ 600 R, R ₀	1d bis 11d 2d bis 29d	LD 50 LD 50		Erholungsverlauf exponentiell für LD 50(30), linear für LD 50(150)
MOLE	Maus	tägl. Bestr. bis zu be- stimmter Gesamtdosis		LD 50		Erholungsprozess wird progressiv ge- schädigt
		2...6x 300 R, R ₀	4 bis 20 wochen	LD 50		Kein exponentieller Erholungsverlauf
KREBS u. a. 1958	CH3 Maus					
		tägl. R ₀ - Dosis, ver- schieden hoch	30d nach letzter Bestrahlg.	LD 50		Kein exponentieller Erholungsverlauf
STORER 1962	RF/J Maus	400 R, R ₀ tägl. 100 R bis zum Tode	1 bis 4d entfällt	LD 50		Fragliche Fluktuation Progressiver Abfall der mittlern Über- lebenszeit
		400 R, R ₀	4, 8, 12h, 2, 4, 10, 20, 40, 75, 90d	LD 50, Restscha- den		Fluktuation des Restschadens, Min. 4h nach D _c , Max. 8h nach D _c ; dann expo- nentieller Verlauf bis 90 d nach D _c . Überschneidende Erholung 10d nach D _c ; zwischen 20d und 90d nach D _c Rest- schaden konstant.
KALLMAN u. a. 1963	C57BL Maus	300 R, R ₀	3h bis 48h	LD 50, Kest- schaden		Fluktuation des Restschadens, Min. 6h nach D _c , Max. 10 bis 14h nach D _c , dann zweites Min. 24h nach D _c , dann stän- diger Abfall des Restschadens

Tabelle 9. Split-Dosis-Experimente an ganzbestrahlten Tieren.



Autor	Tier	Vorbestrahlung D_c	Zeit zwischen D_c und D_t	Untersucht	Beobachtungen
KALLMAN u. a. 1964	C57BL BALB/c Maus	150 R, 300 R 450 R, R $\ddot{o}$	1,5h bis 48h	LD 50 Restschaden Mortalität	Mehrfache Fluktuationen des Restschadens und der Mortalität: Minima 6 und 24 (bis 30) h nach D_c , Maxima 12 und 30 (bis 36) h nach D_c , dann stndiger Abfall.
AINSWORTH u. a. 1964	C1F Maus	etwa 200 rad Neutronen, Gamma, R $\ddot{o}$	1d bis 14d	LD 50	Nach Vorbestrahlung mit Neutronen Fluktuation: Min. 9d nach D_c , Max. 5d nach D_c . Nach Vorbestrahlung mit R $\ddot{o}$ oder Gamma keine Fluktuation aufgetreten.

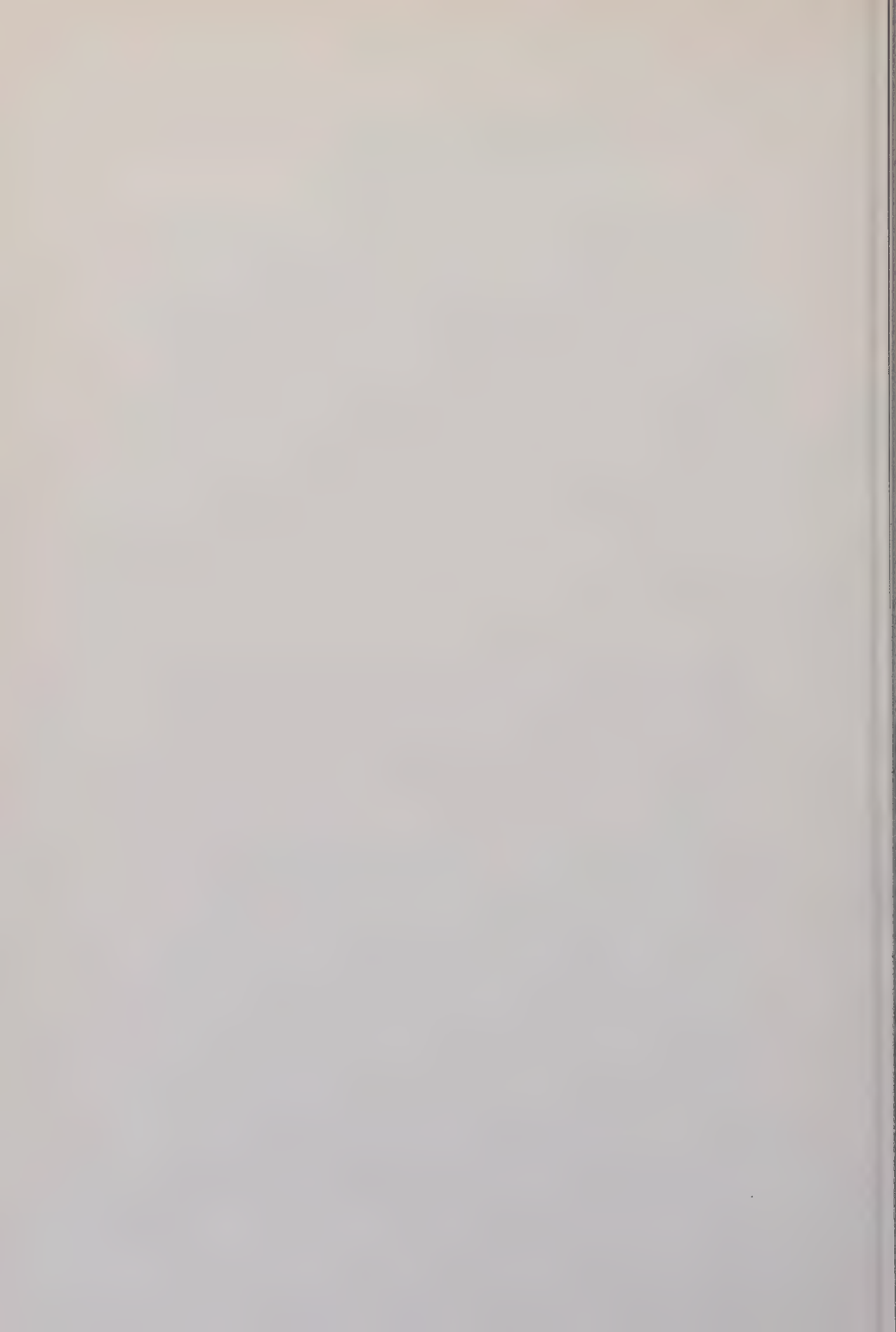
Tabelle 9 (Fortsetzung). Split-Dosis-Experimente an ganzbestrahlten Tieren.
 D_c = Bedingungs dosis; D_t = Testdosis.



4.7 Zelluläre Vorgänge - Ursache der Erholung nach Bedingungs-dosis

Split-Dosis-Experimente am ganzen Tier zeigten eindrucksvoll, daß der nach einer subletalen Dosis ionisierender Strahlung erkennbare "Restschaden" keineswegs konstant bleibt. Vielmehr hatte die Restschadenskurve während der ersten Stunden eine oder mehrere Fluktuationen aufgewiesen, im Abstand von Tagen bis Wochen nach Exposition war die Kurve exponentiell oder linear abgefallen. Es müssen also im Tierorganismus Vorgänge ablaufen, die der strahlenbedingten Schädigung entgegenwirken und als "Erholung" - gemessen an der Abnahme der Schädigung - sichtbar werden.

Für den von uns benutzten Dosisbereich in der Größenordnung der LD 50(30) ist das Knochenmark das kritische Organ. Die Todesfälle innerhalb von 30 Tagen nach Bestrahlung lassen sich auf das sogenannte Knochenmarksyndrom zurückführen. Dieses Syndrom entsteht durch Insuffizienz des Markorgans nach dem Absterben von blutbildenden Stammzellen (BOND, FLIEDNER, ARCHAMBEAU 1965). Es wäre nun denkbar, daß der am ganzen Tier sichtbare Erholungsablauf lediglich ein Spiegelbild der Vorgänge an den Stammzellen darstellt. Für diese Annahme sprechen die split-Dosis-Versuche, die TILL und McCULLOCH (1963) an Stammzellen von Mäusen in vivo unternahmen. TILL und McCULLOCH fanden eine wellenförmig verlaufende Erholung ähnlich den Vorgängen, die sich am ganzen Tier beobachten lassen: das Minimum der Fluktuation trat fünf Stunden, das Maximum zehn Stunden nach Bedingungs-dosis auf.

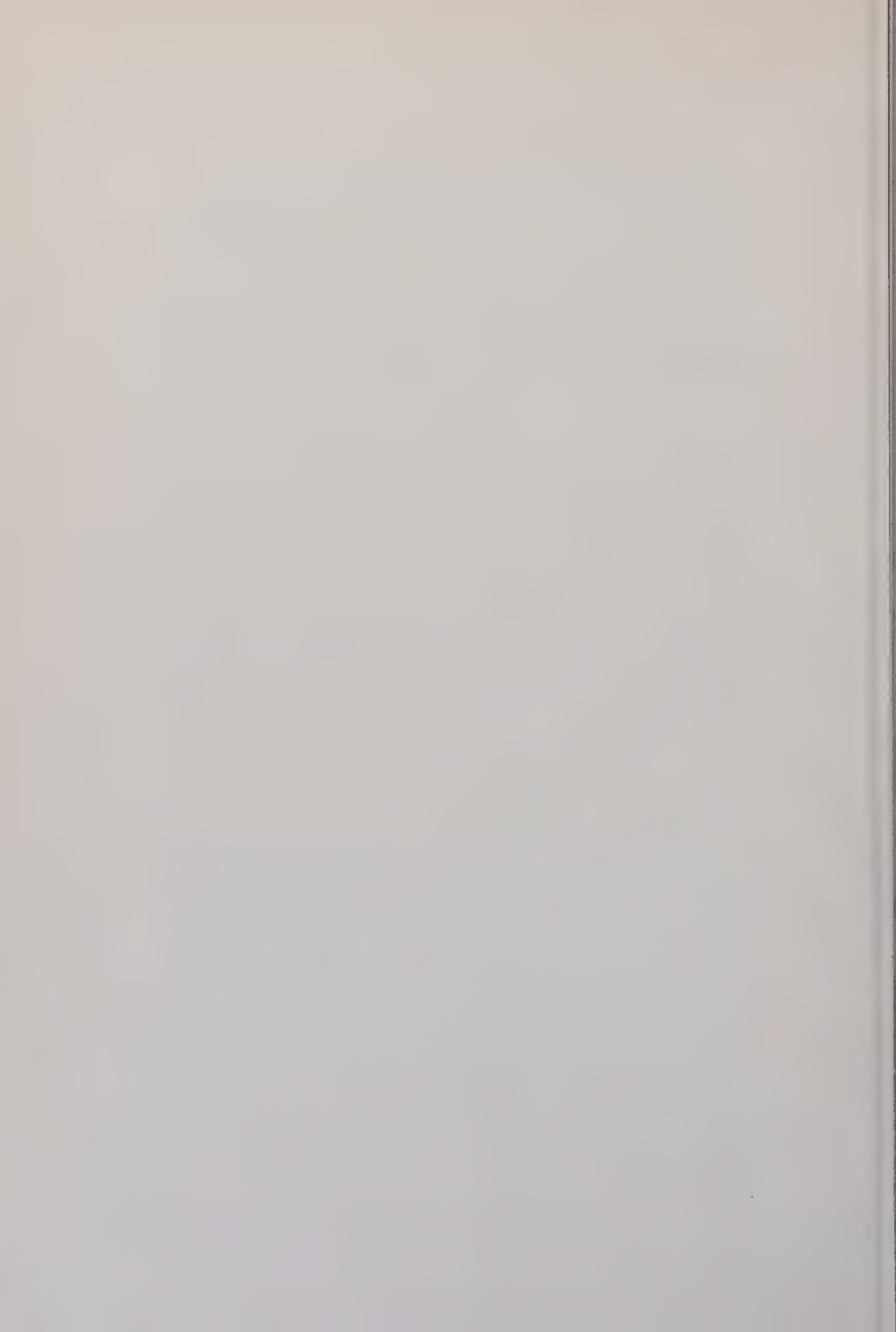


Vor diesen in vivo-Versuchen zur Erforschung von Erholungsprozessen gab es aber bereits in vitro-Experimente, die meist an Kulturen aus HeLa-Zellen oder Zellen des chinesischen Hamsters durchgeführt wurden. Als Ergebnis fand man regelmäßig während der ersten 8 bis 12 Stunden nach D_0 eine vollständige Fluktuation entsprechend dem - nach seinem Entdecker benannten - "ELKIND"-Typ der Erholung.

ELKIND und SUTTON (1960) beobachteten als erste fluktuierende Erholungsvorgänge in einem split-Dosis-Experiment an Zellkulturen des chinesischen Hamsters. Nach diesen klassischen Versuchen entwickelte ELKIND (1961) ein Modell, mit dem er den wellenförmigen Erholungsablauf zu erklären suchte. Durch weitere überzeugende Experimente gelang es ELKIND inzwischen, die Hypothesen seines Modells zu erhärten. Auf dem schon erwähnten Kongreß in Olso (Japan) gab ELKIND (1965) eine ausführliche Darlegung seiner Arbeiten seit 1960. Sein "repair and progression"-Modell besagt in Kürze Folgendes:

Die Bestrahlung erzwingt zunächst eine teilweise Synchronisation der Zellen im Generationszyklus. Nach einer genügend hohen Dosis überleben nämlich nur die Zellen, die sich gerade in der resistantesten Phase des Generationszyklus, der S-Phase (bei den Hamsterzellen), befinden. Bald nach der Bestrahlung beobachtet man wieder einen Anstieg der Überlebensrate. Dieser kann nur durch Erholungsvorgänge größtenteils in den resistenteren S-Zellen bedingt sein, da ja alle empfindlicheren Zellen die erste Bestrahlung nicht überlebten.

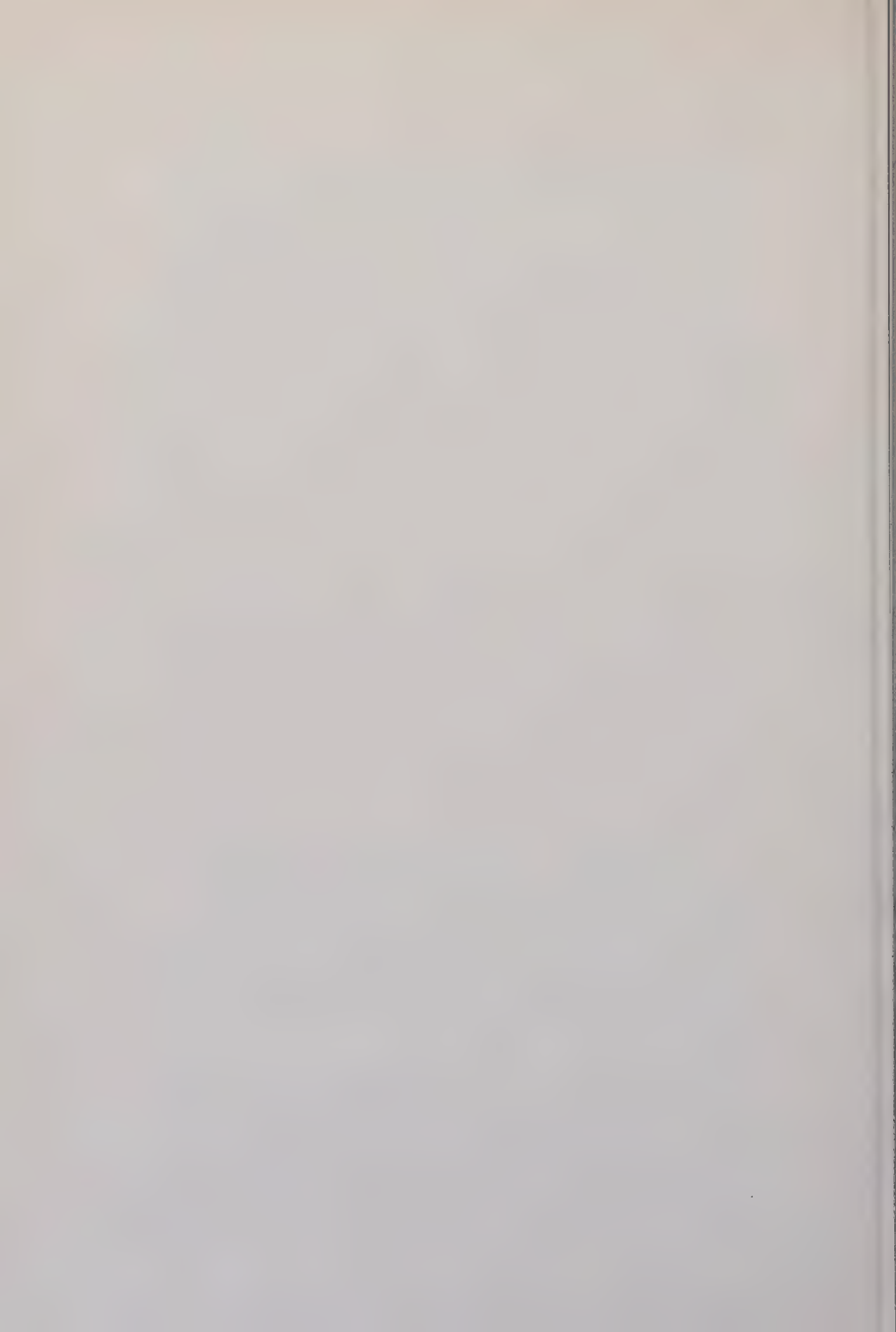
Bei optimaler Wachstumstemperatur läuft unmittelbar



nach der Erstdosis ein weiterer bedeutsamer Vorgang ab: überlebende Zellen schreiten im Zyklus auf die Mitose zu und sammeln sich dann während der strahlenbedingten Teilungsverzögerung in der (bei Hamsterzellen) strahlenempfindlicheren G2-Phase. Wenn man jetzt eine zweite Dosis zu verschiedenen Zeiten appliziert, gründet die beobachtete Wirkung auf dem "Reineffekt" aus Erholung (repair) und Änderung der Zyklusphase (progression). Die Erholung führt zu einem schnellen Überlebensanstieg nach der zweiten Dosis, die Progression bedingt aber eine vorübergehend höhere Strahlenempfindlichkeit und damit eine höhere Mortalität. Als Ergebnis kommt es zu einem Maximum der Überlebensrate ein bis zwei Stunden und einem Minimum fünf bis sechs Stunden nach der ersten Exposition. Dieses Fluktuationschema wird - modifiziert durch den Zellzuwachs nach beendeter Teilungsverzögerung - wiederholt, da die zur Asynchronie führenden Einflüsse bis zu ihrer Wirksamkeit Zeit erfordern (ELKIND 1964).

Das "repair and progression"-Modell ließ sich inzwischen durch die Ergebnisse vieler split-Dosis-Versuche an Zellkulturen und an ganzen Tieren bestätigen (vgl. ELKIND 1964; SINCLAIR 1964; HORNSEY und SILINI 1962; TERASIMA 1963; TILL und McCULLOCH 1963; KALLMAN und SILINI 1963; KALLMAN u. a. 1964; STORER 1964; CALDWELL u. a. 1965; FOWLER 1965; HANKS und KAPLAN 1965; STEARNER u.a. 1966).

KALLMAN (1963) entwickelte eine eigene vom ELKIND-Modell abweichende Hypothese, um die fluktuierenden Erholungsvorgänge zu erklären. Er ließ darin nur die durch "progression", nicht aber die durch "repair" bedingten Prozesse zu.



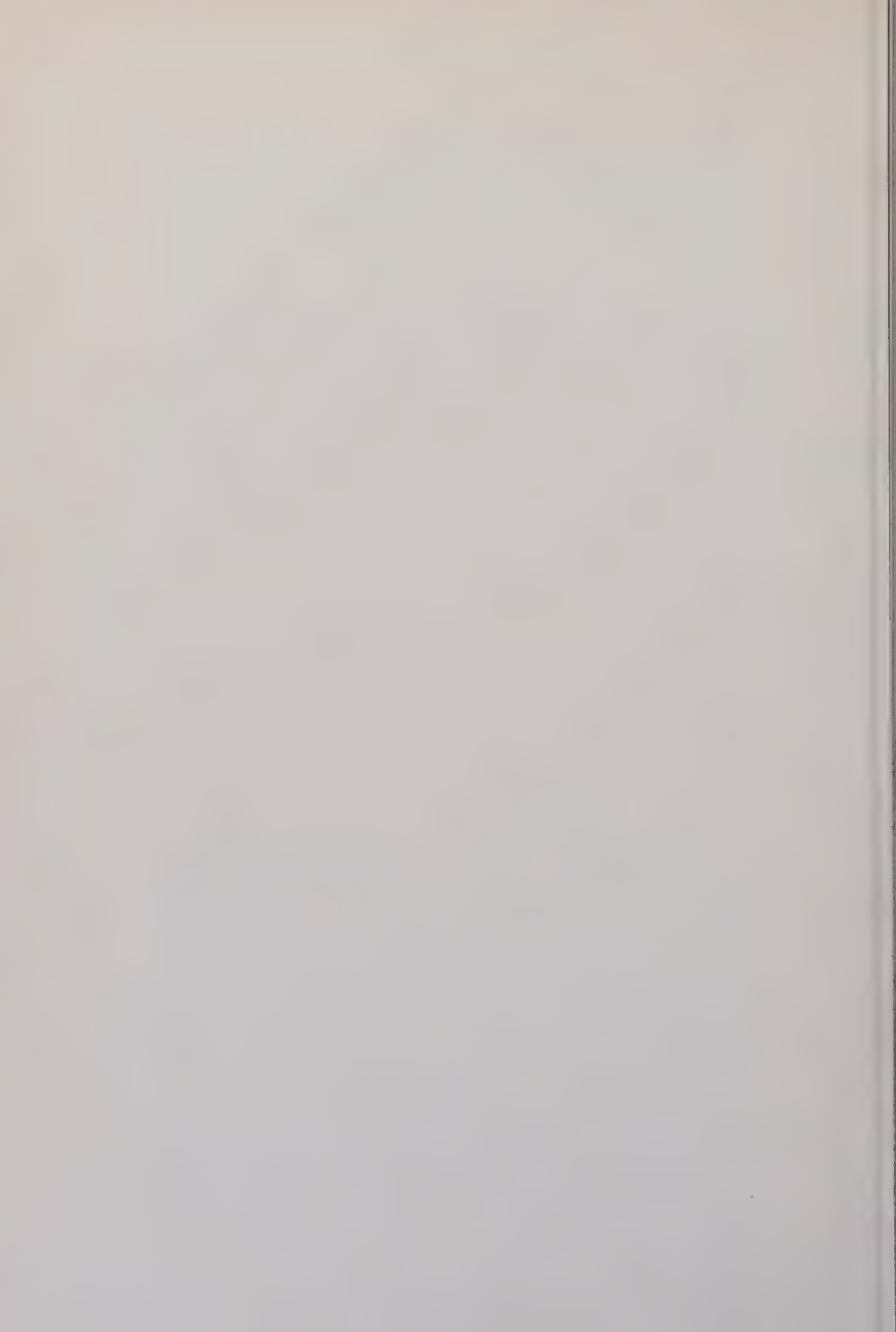
Seine umfangreichen Tierversuche führten zu dem Schluß, daß die Erholungsvorgänge an ganzbestrahlten Mäusen einen exponentiellen Verlauf nehmen, der durch wiederholte Fluktuationen vom "ELKIND"-Typ überlagert wird.

wenn wir nun versuchen, das ELKIND-Modell auf unsere experimentellen Ergebnisse anzuwenden, treten erhebliche Schwierigkeiten auf. Die von uns an drei Altersgruppen beobachtete Fluktuation des Erholungsverlaufs dauert etwa 48 Stunden, während der ELKIND-Typ nur 6 Stunden beansprucht. Ein qualitativ so beträchtlicher Unterschied läßt sich nicht mehr mit einer normalen biologischen Schwankungsbreite erklären. Mehrere Deutungen dieses Verhaltens sind möglich:

Erstens könnten die Erholungsprozesse im Knochenmark so schnell verlaufen, daß zu ihrer Erfassung die Zeitintervalle nach Bedingungs-dosis wesentlich kürzer gewählt werden müßten.

Zweitens ist in Betracht zu ziehen, daß bei Jungtieren - entsprechende bisher vorliegende Experimente wurden ausschließlich an erwachsenen Tieren durchgeführt - die Erholungsvorgänge tatsächlich so langsam sind. Die Ursache dafür wäre vielleicht in einem von Natur aus langsamen Generationszyklus der Stammzellen zu suchen oder darin, daß ein physiologischerweise kürzerer Zyklus infolge Bestrahlung verlängert wird. Das könnte vielleicht durch eine sehr lange strahlenbedingte Teilungsverzögerung oder durch einen sehr langsamen Verlauf der frühen Erholungsvorgänge in den überlebenden Zellen ("repair" im ELKIND-Modell) zustandekommen.

Drittens darf vorläufig auch noch nicht ausgeschlossen werden, daß die Form der von uns

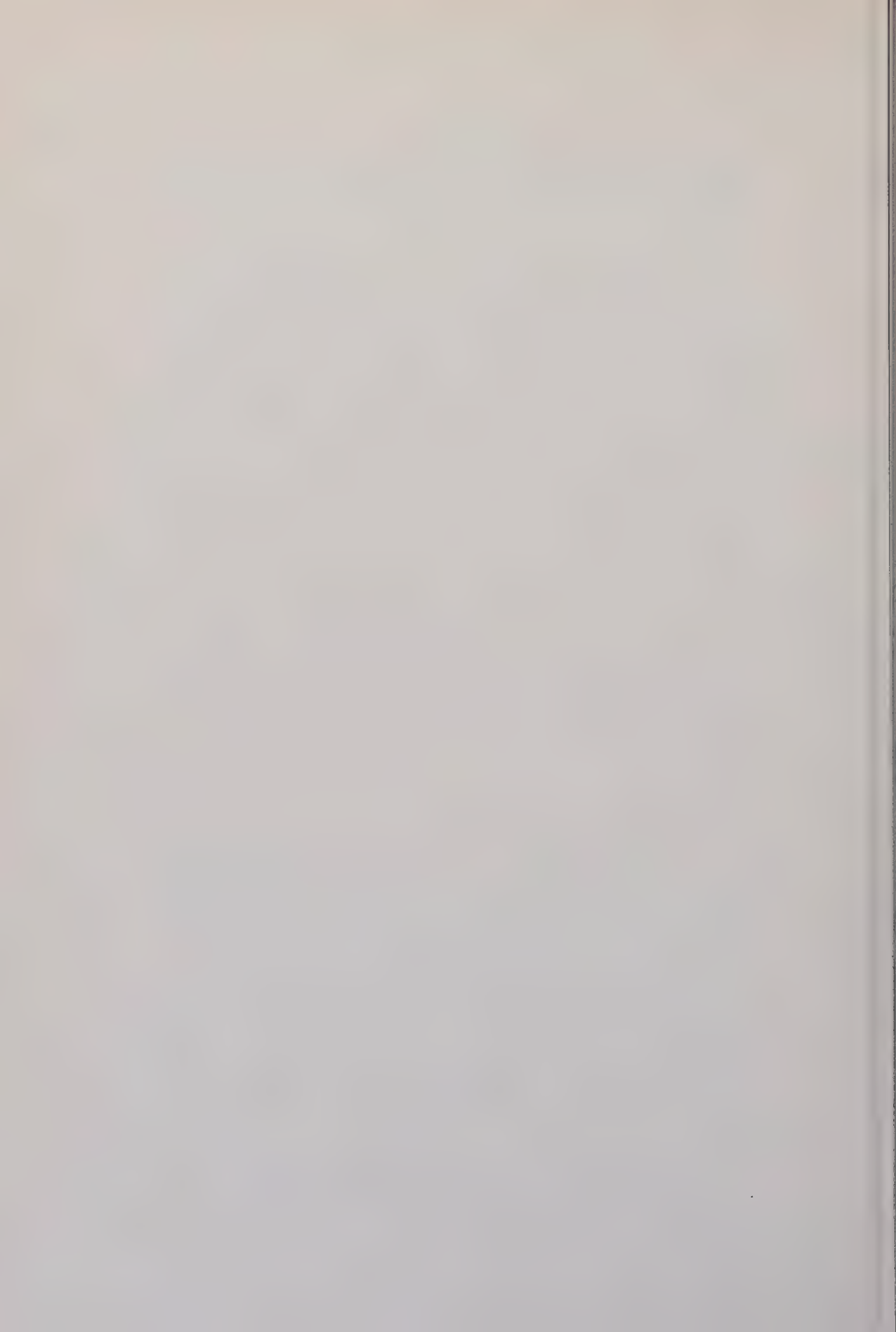


gefundenen Erholungskurve - mit nur einer einzigen, sehr lange dauernden Fluktuation - auf Speziesunterschiede zurückgeht.

Die Vermutung, daß bei jungen Individuen der Spezies Ratte die Erholungsvorgänge tatsächlich sehr langsam ablaufen, läßt sich vielleicht durch einen weiteren Befund stützen: Zwei Altersgruppen zeigten 48 Stunden nach Bedingungs-dosis immer noch keine wesentliche Abnahme des Restschadens (vgl. Abb. 14, nach S. 32), d. h. die Erholung hatte nach zwei Tagen keinen deutlichen Fortschritt gemacht. Diese Beobachtung wurde in einem späteren Experiment (noch unveröffentlicht) an 32 Tage alten Ratten bestätigt: hier ließ sich sogar 60 Stunden nach D_0 noch keine nennenswerte Erholung erkennen. Eine solche darf man zu einer bestimmten Zeit nach der Strahleneinwirkung bei schnell fortschreitenden Erholungsprozessen früher als nach langsamen erwarten.

Im Gegensatz zu unserem Befund beobachteten andere Autoren beispielsweise an Zellkulturen und erwachsenen Mäusen 48 Stunden nach Bestrahlung und auch schon früher eine deutliche Schadensminderung. ELKIND (1961, zitiert bei KALLMAN u. a. 1964) fand 24 Stunden nach Exposition von in vitro-Zellkulturen des chinesischen Hamsters einen Restschaden von nur 20 %; TILL und McCULLOCH (1963, zitiert bei KALLMAN u. a. 1964) beobachteten an Knochenmarkzellen der Maus 48 Stunden nach Bestrahlung noch ungefähr 60 % Restschaden.

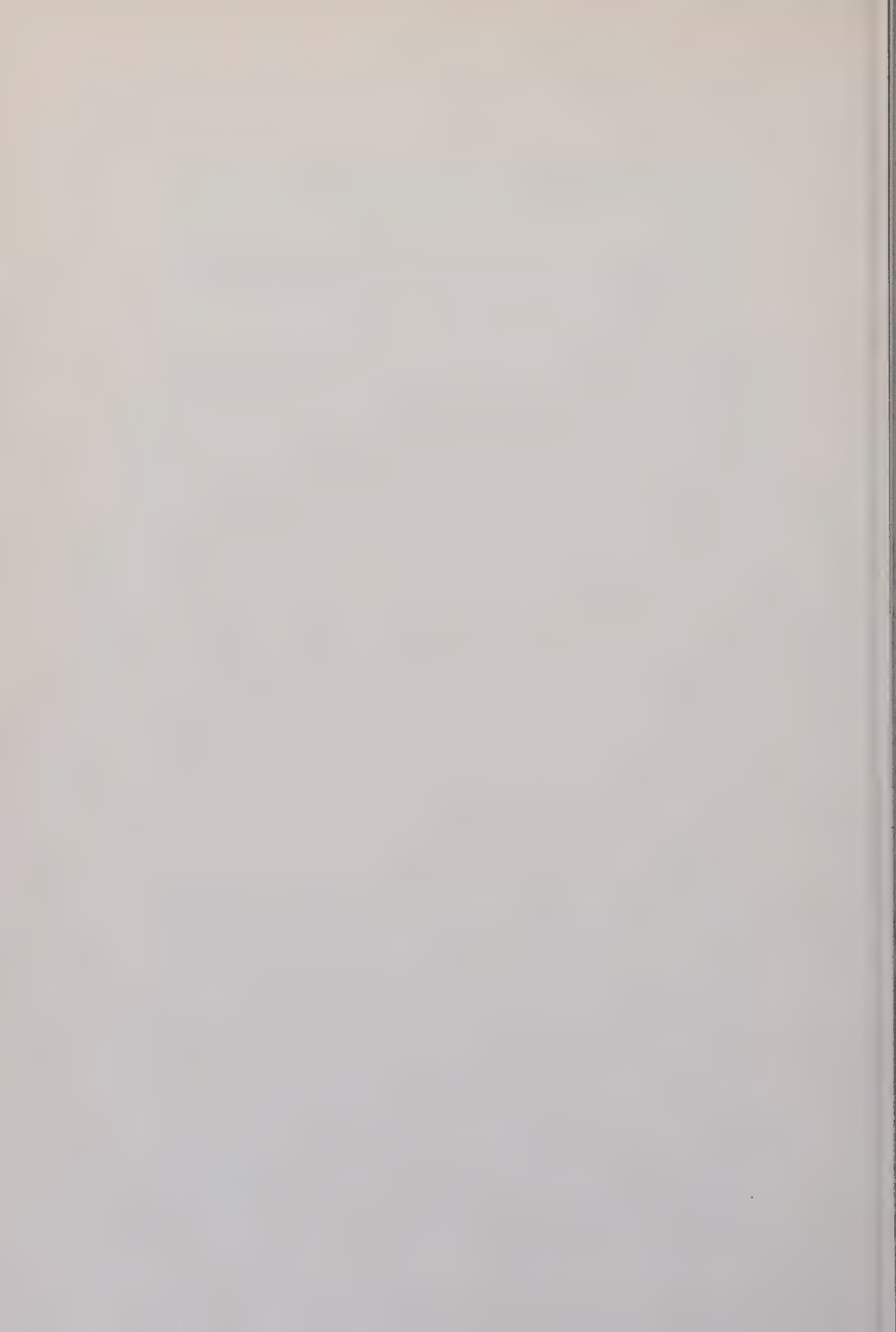
Die von KALLMAN und seinen Mitarbeitern (1964, 1965) an erwachsenen Mäusen verschiedener Stämme



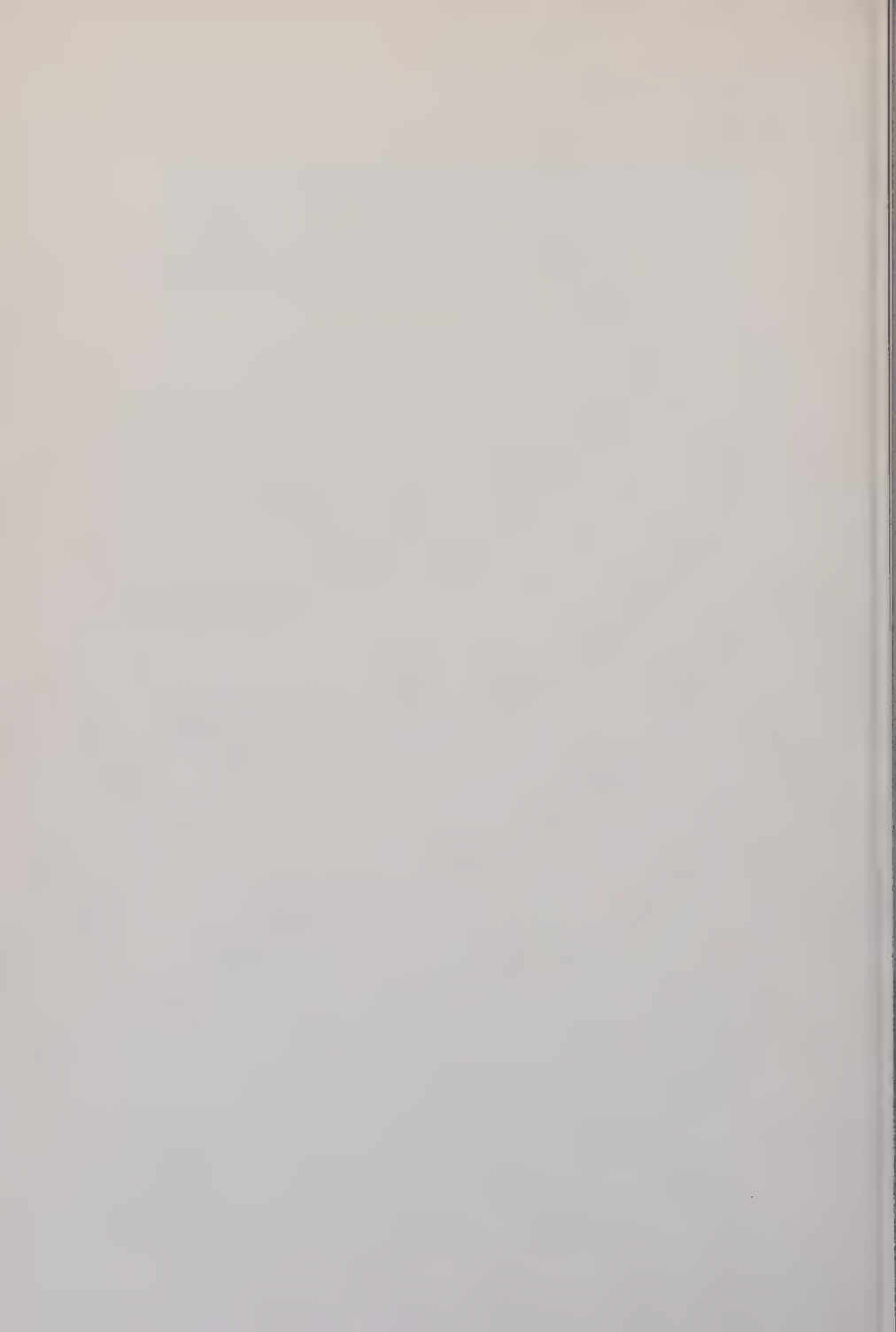
durchgeführten Versuche zeigten übereinstimmend, daß oft schon früher als 48 Stunden nach Exposition die Schädigung beträchtlich abgenommen hatte: Der Restschaden erreichte nur noch Werte zwischen 0 und 60 %, wobei die obere Grenze seltener berührt wurde.

Alle diese Befunde scheinen Ausdruck einer erheblich schneller verlaufenden Erholung zu sein, als wir sie beobachteten. Vielleicht könnte man mit Hilfe entsprechender Experimente klären, ob sich die Erholungsprozesse in jungen Ratten tatsächlich durch geringere Geschwindigkeit und weniger häufige Fluktuationen von denen anderer Spezies unterscheiden. Der Aufwand für einen solchen Versuch wäre jedoch ganz erheblich, da er neben einer Beobachtung des ganzen Tieres auch möglichst Untersuchungen der zellulären Ereignisse einschließen sollte. Es bliebe aber fraglich, ob beim gegenwärtigen Stand der Kenntnisse die Ergebnisse alle in das Experiment gesetzten Erwartungen erfüllen könnten und man nicht wie bei bisher vorliegenden Versuchen bald eine Grenze ihrer Deutungsmöglichkeiten erreichen würde.

So läßt sich augenblicklich mit einiger Sicherheit nur feststellen, daß die an ganzen Tieren gefundenen Erholungsvorgänge in den ersten 48 Stunden nach einer subletalen Bestrahlung - vielleicht mit einer speziesabhängigen Geschwindigkeit - fluktuierend ablaufen ähnlich den Prozessen, die man an Zellkulturen in vitro und in vivo beobachtet hat. Quantitative Aussagen lassen sich vorläufig noch nicht machen, sondern nur qualitative. Die Kenntnisse der zellulären Vorgänge im Knochenmark und vielleicht auch



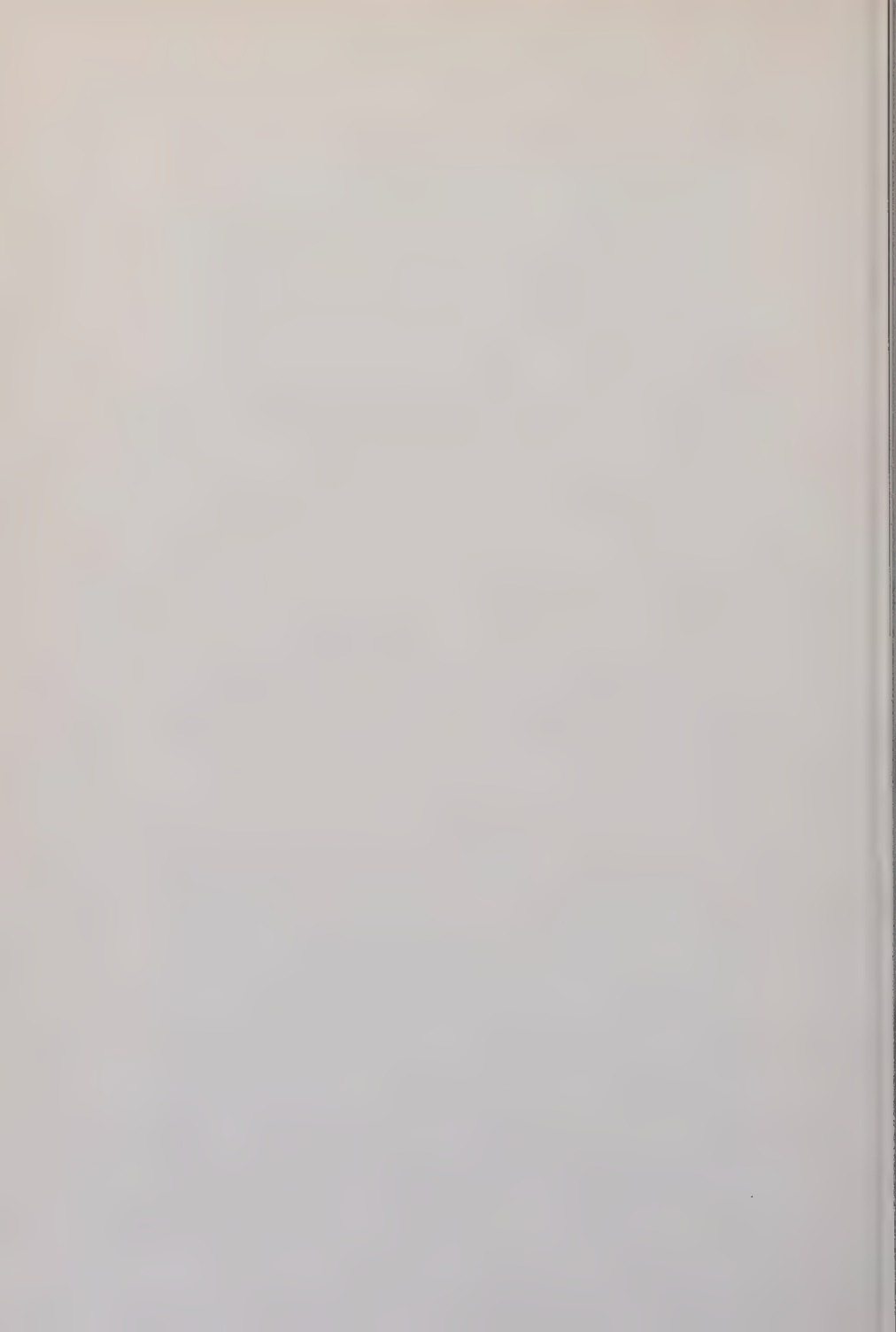
anderen kritischen Organen bedürfen noch einer weiteren Vertiefung. Erst auf einer dann entsprechend breiten Grundlage scheinen neue, aufwendige Experimente am ganzen Tier zur Untersuchung der Erholung nach Röntgenganzbestrahlung gerechtfertigt und vor allem auch erfolgversprechend zu sein.



5.0 Zusammenfassung

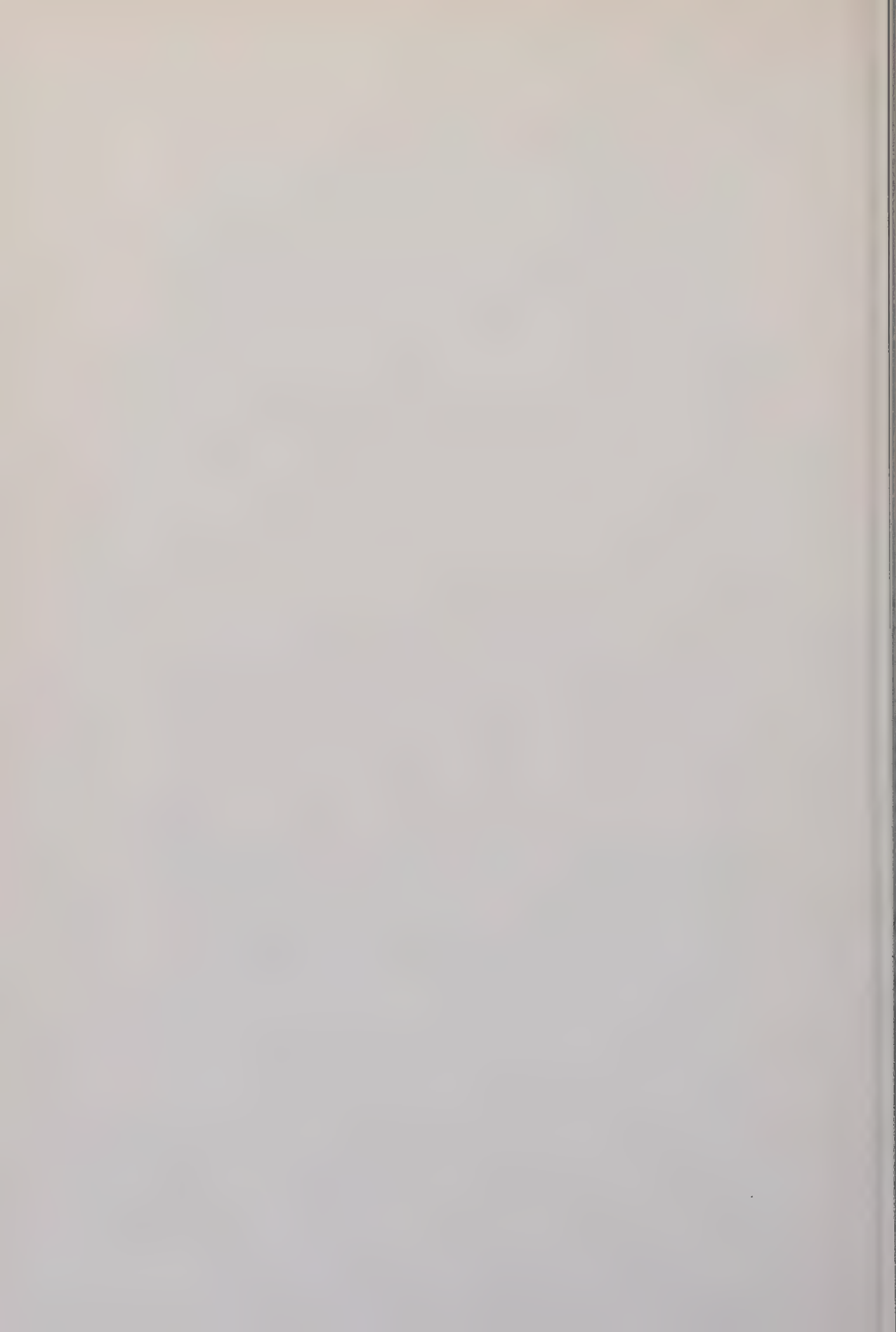
Junge Wistar-Ratten im Alter von 12, 24 oder 32 Tagen wurden mit einer ein- oder zweimaligen Röntgenganzbestrahlung belastet. Die Dosisverteilung im Tierkörper erwies sich bei doppelseitiger Exposition (250 kV) im Meßversuch am toten Tier mit ± 3 bis ± 4 % als hinreichend homogen. 1667 Jungtiere bekamen jeweils nur eine einzige Strahlendosis zur Schätzung der LD 50(30). An 2602 Ratten wurde die LD 50(30) zu verschiedenen Zeitabständen zwischen 6 und 48 Stunden nach einer Vorbestrahlung mit subletaler Dosis bestimmt. Aus der Differenz der LD 50-werte von vorbestrahlten und nicht vorbestrahlten Tieren ließen sich Schlußfolgerungen über die "Erholung" von der subletalen Vorbestrahlungsdosis ziehen. Diese Methode ist als "split-Dosis-Technik" bekannt. Zur Kontrolle der "Spontanmortalität" wurden 386 unbestrahlte Ratten beobachtet.

Die LD 50(30)-werte wurden mittels Probitanalyse aus den Absterbedaten geschätzt. Der daraus abgeleitete "Restschaden" zeigte im Verlauf der untersuchten Zeitintervalle charakteristische Schwankungen, die zunächst zu einem Minimum (12 Stunden nach Vorbestrahlung) und dann zu einem Maximum (18 bis 24 Stunden nach Vorbestrahlung) führten. Allerdings waren diese Schwankungen nicht in allen drei Altersgruppen gleich deutlich ausgebildet. Während im Alter von 12 Tagen ein ausgeprägtes Minimum und Maximum auftraten, überwog ein Maximum des Restschadens bei den 24 Tage alten Ratten, ein Minimum des Restschadens aber bei den 32 Tage alten Tieren.



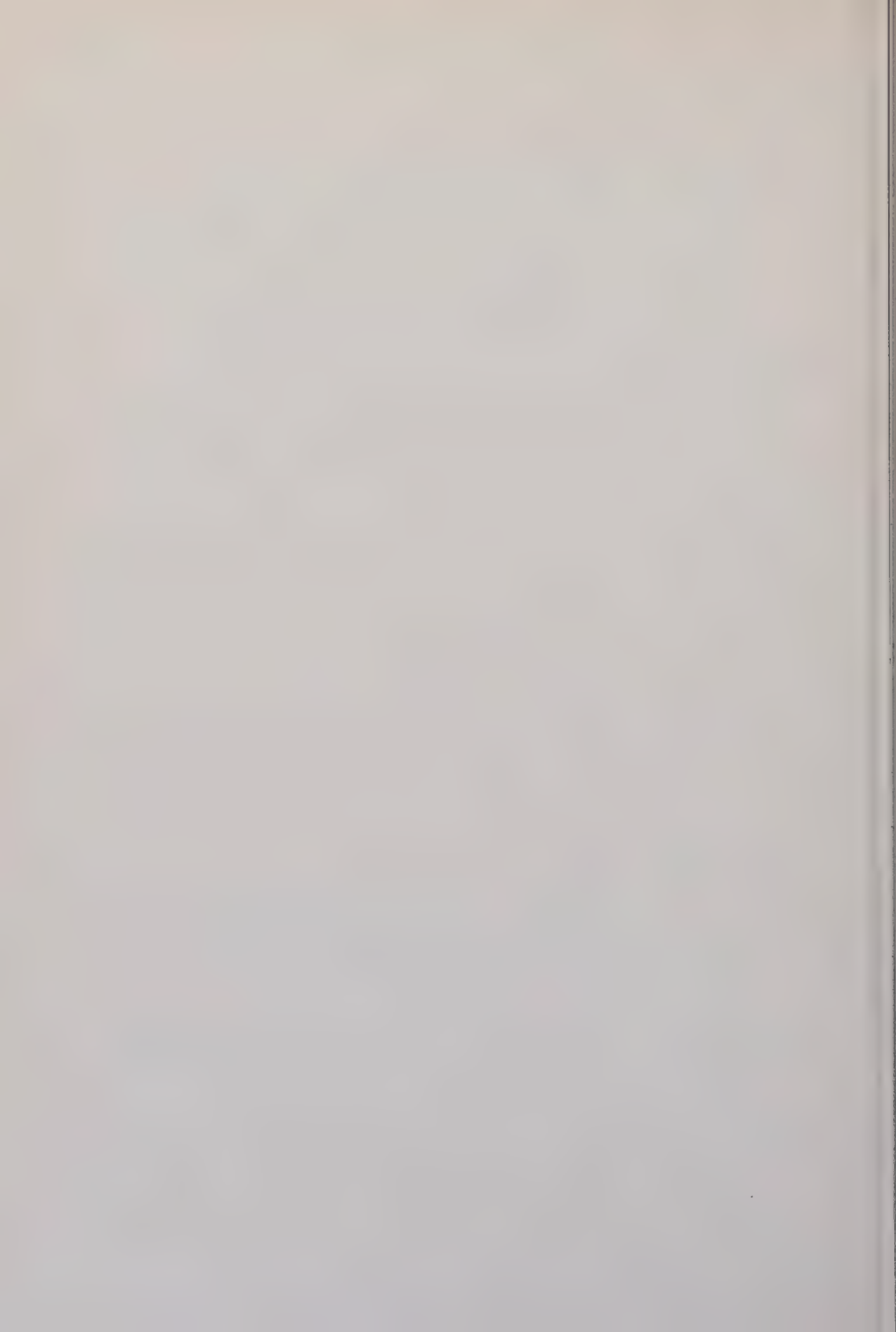
In einer zweiten Auswertung der Versuchsdaten wurde eine multiple Regressionsanalyse mittels eines Computer-Programms durchgeführt. Neben dem zusätzlichen Einfluß von Geschlecht, Gewicht und Tageszeit auf die von der Strahlendosis abhängige Mortalität konnte darin auch der Einfluß des Zeitintervalls zwischen Vor- und Testbestrahlung auf die Sterblichkeit untersucht werden. Es zeigte sich in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Restschadens-Schätzung, daß die Empfindlichkeit gegenüber einer zweiten Dosis Röntgenstrahlen mit dem Zeitabstand zur Erstdosis Schwankungen unterlag.

Solche Schwankungen waren nach den Ergebnissen anderer Untersucher erwartet, bisher aber nur an erwachsenen Mäusen nachgewiesen worden. Im Zusammenhang mit Versuchen an bestrahlten Zellkulturen wurden sie allgemein als Repräsentation des sogenannten ELKIND-Typs der Erholung aufgefaßt und durch ELKINDs "repair and progression"-Modell erklärt. Im vorliegenden Versuch konnte zwar der ELKIND-Typ der Erholung auch an jungen Ratten nachgewiesen werden, aber das "repair and progression"-Modell ließ sich nicht auf die Ergebnisse anwenden. Die Ursachen für diesen Befund können auf methodische Fragen oder aber auf die spezifische Eigenart der verwendeten jungen Ratten zurückgehen.



6.0 S c h r i f t t u m

- AINSWORTH, E.J., LEONG, G.F., KENDALL, K., ALPEN, E.L., ALBRIGHT, M.
Pulsed irradiation studies in mice, rats
and dogs.
Biological effects of neutron and proton
irradiations, Vol. II, 1964, 15-30
- BOND, V.P., FLIEDNER, T.M., ARCHAMBEAU, J.O.
Mammalian radiation lethality.
A disturbance in cellular kinetics
Academic Press, New York and London, 1965
- CALDWELL, W.L., LAMERTON, L.F.
Increased sensitivity of in vitro murine
leukaemia cells to fractionated X-rays
and fast neutrons.
Nature 208, 1965, 169-170
- CROSFIL, M.L., LINDOP, P.J., ROTBLAT, J.
Variation of sensitivity to ionizing radi-
ation with age.
Nature 183, 1959, 1729
- ELKIND, M.M., SUTTON, H.
Radiation response of mammalian cells grown
in culture. I. Repair of X-ray damage in
surviving chinese hamster cells.
Rad. Res. 13, 1960, 556-593
- ELKIND, M.M. Vortrag auf der "Gottlinburg Conference"
J. Cellular Comp. Physiol. 58 (1), 1961, 113-34
- FINNEY, D.J. Probit Analysis. A statistical treatment of
the sigmoid response curve.
Cambridge University Press, Second Edition



FOWLER, J.F., KRAGT, K., ELLIS, R.E., LINDOP, P.J.

The effect of divided doses of 15 MeV electrons on the skin response of mice.

Intern. J. Rad. Biology 3, 1965, 241-252

GLOCKER, R., MACHERAUCH, E.

Röntgen- und Kernphysik für Mediziner und Biophysiker, 2. Aufl. 1965

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

HANKS, G.E., KAPLAN, H.S.

Single-dose and split-dose X-ray studies of the radiosensitivity of autochthonous radiation-induced lymphosarcomas in C57BL mice.

Rad. Res. 26, 1965, 84-94

HAGEN, C.W., SIMMONS, E.L.

Effects of total-body X-irradiation on rats. I. Lethal action of single, paired and periodic exposures.

Manhattan District Report DC-1210, 1943

HORNSEY, S., SILINI, G.

Recovery of tumor cells cultured in vivo after X-ray and neutron irradiations.

Rad. Res. 16, 1962, 712

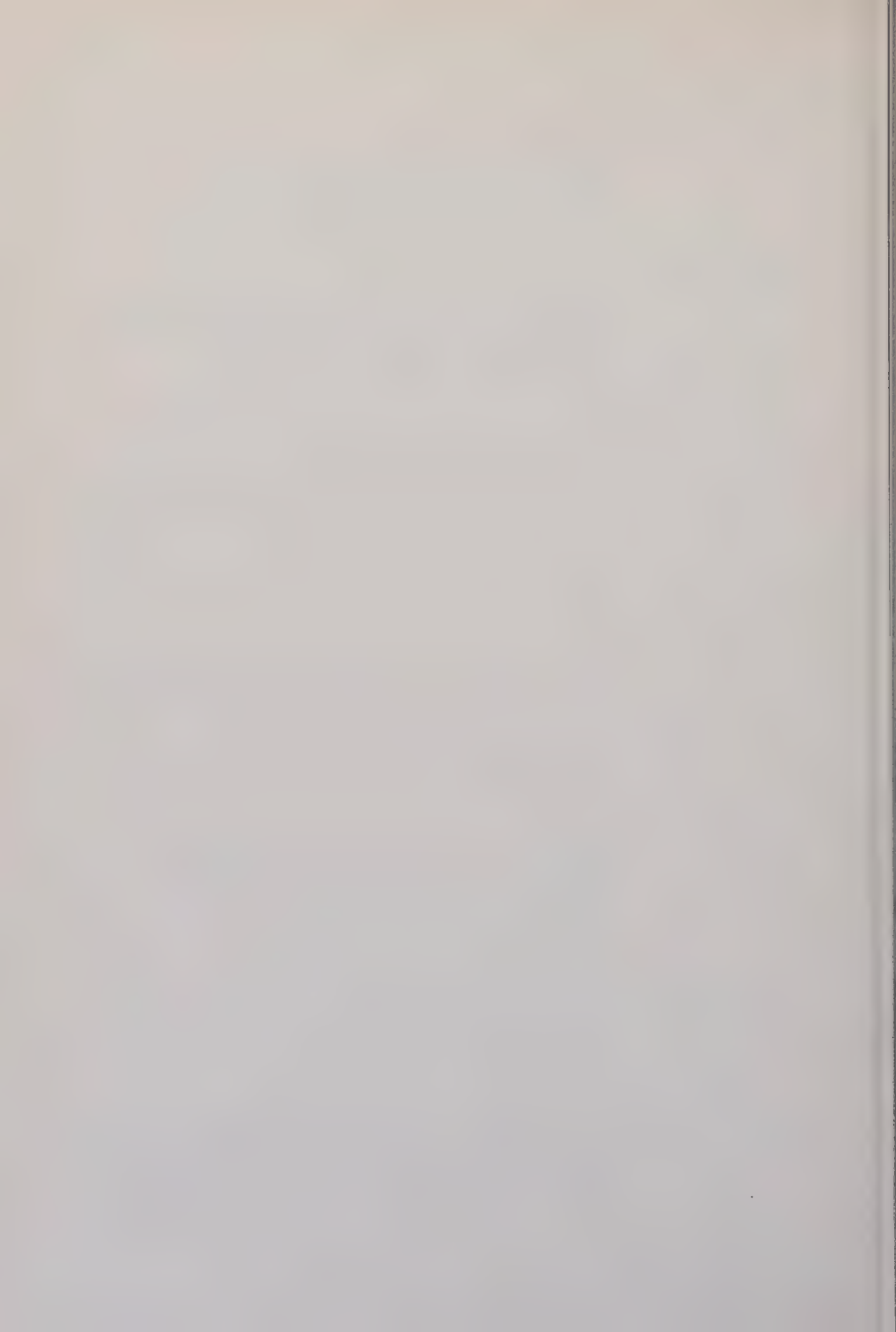
KALLMAN, R.F. Recovery from radiation injury: A proposed mechanism.

Nature 197, 1963, 557-560

KALLMAN, R.F., SILINI, G.

Some observations and a hypothesis concerning the early stages of radiation recovery.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 114, 1964, 173-184



KALLMAN, R.F., SILINI, G., FRINDEL, E.

Recuperation in mammalian cell systems as revealed by radiation dose fractionation.

In: Jap. J. Genetics, Suppl. 40, 1965, 207-228

KAPLAN, H.S., BROWN, M.B.

Mortality of mice after total-body irradiation as influenced by alterations in total dose, fractionation, and periodicity of treatment.

J. Nat. Canc. Inst. 12, 1952, 765-75

KINGERY, L.B.

Saturation in roentgen therapy, its estimation and maintenance.

Arch. Dermatol. and Syphilol. 1, 1920, 423-434

KOHN, H.I., KALLMAN, R.F.

Acute lethality studies with the rat: the LD 50, death rate and recovery rate.

Rad. Res. 7, 1957, 35-97

KREBS, J.S., BRAUER, R.W., KALBACH, H.

The estimation of the nonrecuperable injury caused by ionizing radiation.

Rad. Res. 10, 1959, 80-88

KREBS, J.S., BRAUER, R.W.

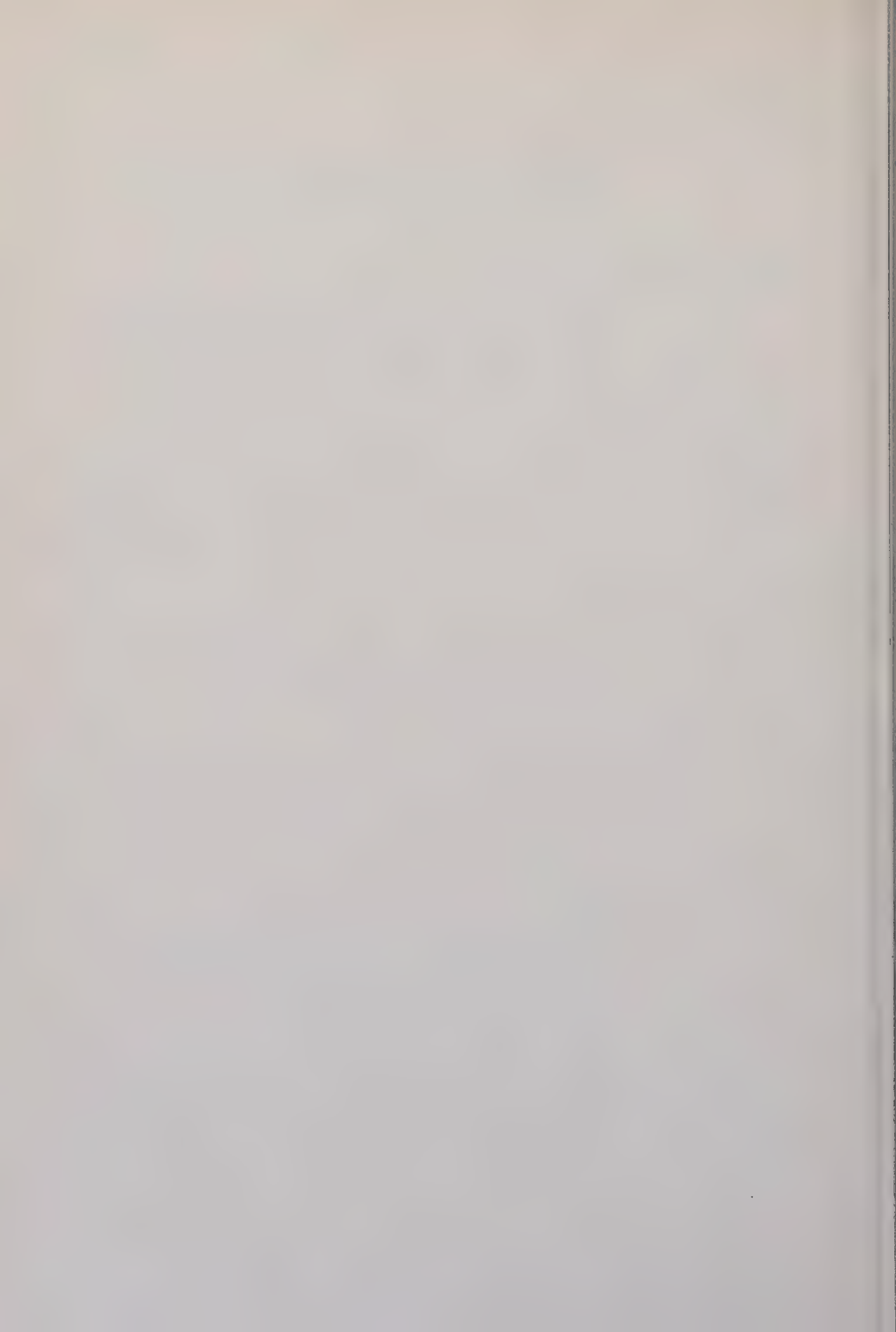
Accumulation of letnal irradiation doses by fractionated exposure to X-rays.

Rad. Res. 25, 1965, 430-488

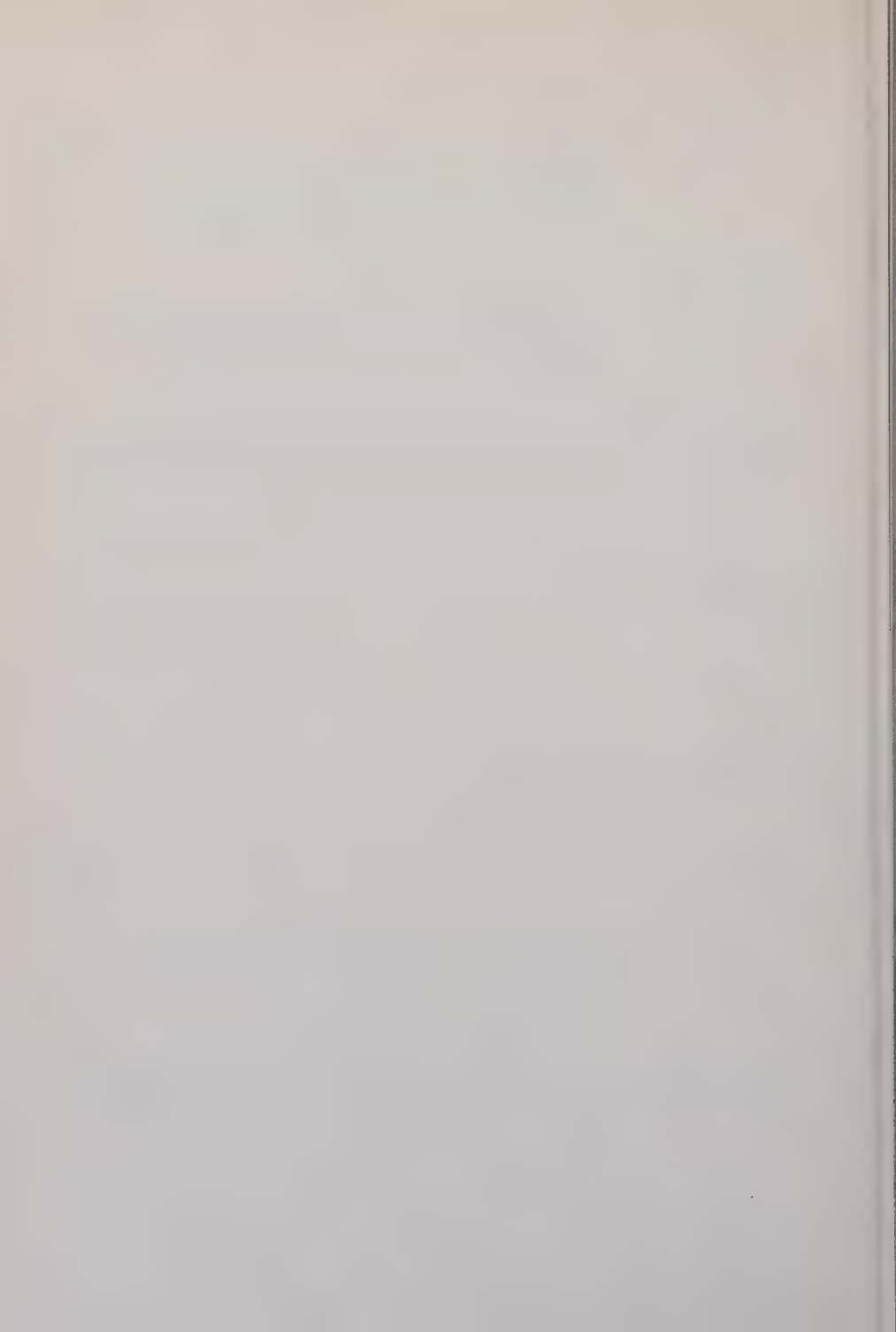
MCLE, R.H.

Quantitative observations on recovery from whole body irradiation in mice. I. Recovery after single large doses of radiation.

Brit. J. Radiol. 29, 1956, 563-569



- MOLE, R.H. Quantitative observations on recovery from whole body irradiation in mice. II. Recovery during and after daily irradiation .
Brit. J. Radiol. 30, 1957, 40-46
- PATERSON, E., GILBERT, C.W., MATHEWS, J.
Time intensity factors and whole body irradiation.
Brit. J. Radiol. 25, 1952, 425-433
- REINCKE, U. Auswirkungen einer pränatalen Röntgenganzbestrahlung auf die Hämatopoese junger Ratten.
Strahlentherapie, 118, 1962, 570-580
- REINCKE, U., MELLMANN, J. ROTHER, M.
Zur altersbedingten Strahlenempfindlichkeit weißer Ratten. I. Bestrahlungsanordnung und Bestimmung der Gewebedosis.
Strahlentherapie 129, 1966, 622-628
- SINCLAIR, W.K. Survival and recovery after X-irradiation of synchronized chinese hamster cells in culture.
In: Jap. J. Genetics, Suppl. 40, 1965, 141-61
- STEARNER, S.P., TYLER, S.A., SANDERSON, M.H.
Evidence of "over-recovery" in the irradiated chick.
Rad. Res. 27, 1966, 727-732
- STORER, J.B. Recovery from radiation injury in mammals.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 114, 1964, 126-137



TERASIMA, T., TOLMACH, L.J.

Variations in several responses of HeLa cells during the division cycle.

Biophys. J. 3, 1963, 11-33

TILL, J.E., McCULLOCH, E.A.

Repair processes in irradiated mouse hemopoietic tissue.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 114, 1964, 115-125



7.0 Lebenslauf

Ich, Jürgen Mellmann, wurde am 1. März 1942 als Sohn des Schneidermeisters Otto Mellmann und seiner Ehefrau Margot, geb. Haas, in Hannover geboren.

Die Kriegsjahre verbrachte meine Mutter mit mir bei Verwandten in der Nähe von Perleberg. Im Oktober 1945 kehrten wir völlig ausgebombt nach Hannover zurück. Dort wurde ich Ostern 1948 eingeschult und besuchte vier Jahre lang die Volksschule am Bonifatiusplatz.

Ostern 1952 wechselte ich in die Leibnizschule Hannover, ein math.-nat. und neusprachliches Gymnasium für Jungen. Nach neun Schuljahren legte ich am 16. Februar 1961 im math.-nat. Zweig der Leibnizschule das Abitur ab. Kurz darauf, am 1. März 1961, verstarb mein Vater ganz plötzlich.

Das Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1961 in Tübingen. Dort bestand ich nach zwei Semestern am 12. April 1962 das Vorphysikum und nach weiteren drei Halbjahren das Physikum am 14. Oktober 1963.

Seit dem Wintersemester 1963/64 studiere ich in Freiburg. Ab Januar 1965 arbeitete ich im Klinischen Strahleninstitut der Universität (Direktor: Prof. Dr. med. E. Stutz) an meiner Dissertation. Nach diesem Wintersemester 1966/67 werde ich das medizinische Staatsexamen an der Universität Freiburg ablegen.

Freiburg, den 14. November 1966
Am Schneckengraben 35

